

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1923

THÈSE

No 325

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jacques MILLOT

Né à Beauvais le 9 juillet 1897

LE PIGMENT PURIQUE
CHEZ LES
VERTÉBRÉS INFÉRIEURS

Président : M. PRENANT, professeur

PARIS

Edition du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
3, Rue d'Ulm

1923

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1923

THÈSE

N^o

POUR

325

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jacques MILLOT

Né à Beauvais le 9 juillet 1897

LE PIGMENT PURIQUE

CHEZ LES

VERTÉBRÉS INFÉRIEURS

Président : M. PRENANT, professeur

PARIS

Edition du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
3, Rue d'Ulm

1923

UNIVERSITÉ DE PARIS — FACULTÉ DE MÉDECINE

Doyen : M. ROGER.

Professeurs :

MM. NICOLAS.....	Anatomie.
CUNEO.....	Anatomie médico-chirurgicale.
CH. RICHET.....	Physiologie.
André BROCA.....	Physique médicale.
DESGREZ.....	Chimie organique et chimie générale.
BEZANCON.....	Bactériologie
BRUMPT.....	Parasitologie et histoire naturelle médicale.
Marcel LABBÉ.....	Pathologie et thérapeutique générales.
N.....	Pathologie médicale.
LECÈNE.....	Pathologie chirurgicale.
LETULLE.....	Anatomie pathologique.
PRENANT.....	Histologie.
RICHAUD.....	Pharmacologie et matière médicale.
CARNOT.....	Thérapeutique.
BERNARD.....	Hygiène.
BALTHAZARD.....	Médecine légale
MÉNÉTRIÉR.....	Histoire de la médecine et de la chirurgie.
ROGER.....	Pathologie expérimentale et comparée.
ACHARD.....	} Clinique médicale.
WIDAL.....	
GILBERT.....	
CHAUFFARD.....	
MARFAN.....	Hygiène et clinique de la 1 ^{re} enfance.
NOBÉCOURT.....	Clinique des maladies des enfants.
H. CLAUDE.....	Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.
JEANSELME.....	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.
P. MARIE.....	Clinique des maladies du système nerveux.
TEISSIER.....	Clinique des maladies contagieuses.
DELBET.....	} Clinique chirurgicale.
LEJARS.....	
HARTMANN.....	
GOSSET.....	
DE LAPERSONNE.....	Clinique ophtalmologique.
LEGUEU.....	Clinique des maladies des voies urinaires.
COUVELAIRE.....	} Clinique d'accouchements.
BRINDEAU.....	
JEANNIN.....	
J.-L. FAURE.....	
BROCA Auguste.....	Clinique gynécologique.
VAQUEZ.....	Clinique chirurgicale infantile.
SEBILEAU.....	Clinique thérapeutique.
DUVAL.....	Clinique oto-rhino-laryngologique.
SERGEANT.....	Clinique thérapeutique chirurgicale.
	Clinique propédeutique.

Agrégés en exercice :

MM.	MM.	MM.	MM.
ABRAMI	DUVOIR	LE LORIER	RETTERRER
ALGLAVE	FIESSINGER	LEMIERRE	RIBIERRE
BASSET	GARNIER	LEQUEUX	ROUSSY
BAUDOUIN	GOUGEROT	LEREBoullet	ROUVIERE
BLANCHETIÈRE	GRÉGOIRE	LÉRI	SCHWARTZ
BRANCA	GUENIOT	LEVY-SOLAL	STROHL
CAMUS	GUILLAIN	MATHIEU	TANON
CHAMPY	HEITZ-BOYER	METZGER	TERRIEN
CHEVASSU	JOYEUX	MOCQUOT	TIFFENEAU
CHIRAY	LABBÉ (Henri)	MULON	VILLARET
CLERC	LAIGNEL LAVASTINE	OKINCZYC	
DEBRE	LANGLOIS	PHILBERT	
DESMAREST	LARDENNOIS	RATHERY	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.



A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur PRENANT

A MA FEMME

qui fut pour moi la plus précieuse collaboratrice

AU PROFESSEUR PIERRE DUVAL

Témoignage de filiale affection



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AVANT-PROPOS

Avant d'exposer le sujet de ce travail, je veux d'abord remplir le très agréable devoir de témoigner ma reconnaissance à ceux qui m'ont formé intellectuellement :

à mes maîtres dans les hôpitaux : MM. les Professeurs DELBET, COUVELAIRE et Marcel LABBÉ, MM. les Docteurs LEREBoullet et FLORAND ;

à mes maîtres de la Faculté des sciences : MM. les Professeurs CAULLERY, PEREZ, RABAUD et WINTREBERT.

M. le professeur agrégé BRANCA, à qui je dois mes premières connaissances histologiques, n'a cessé de me témoigner une bienveillance dont je lui suis respectueusement reconnaissant.

M. le professeur agrégé CHAMPY m'a fourni à plusieurs reprises du matériel d'études et m'a donné d'utiles conseils. Je l'en remercie bien vivement ici.

M. le professeur PRENANT a été pour moi beaucoup plus qu'un maître. Ceux qui ont fait des recherches sous sa direction savent dans quelle atmosphère de confiance, d'intimité et de liberté, les travailleurs peuvent profiter d'un enseignement qui s'élève bien souvent au-dessus de l'histologie pure et d'une érudition qui s'étend à des branches très diverses des sciences biologiques. Ma respectueuse admiration et ma reconnaissante affection pour ce maître ne lui témoigneront jamais assez tout ce que personnellement je lui dois.

Je n'oublie pas mes camarades de laboratoire, et je tiens à évoquer spécialement l'aide amicale que m'ont donnée en maintes circonstances mes amis VERNE et TURCHINI, PARAT et Mme PARAT.

J'ai plaisir, enfin, à remercier mon ami SANNIÉ d'avoir bien voulu mettre sa compétence au service de l'Histologie. La partie chimique de ce travail est le fruit de nombreux entretiens

que nous eûmes ensemble et de manipulations pour lesquelles son habileté technique m'a été très précieuse.

MM. les Professeurs CAULLERY et RABAUD voudront bien trouver ici l'expression de ma vive reconnaissance pour la faveur qu'ils m'ont faite en acceptant de publier le présent travail dans le *Bulletin biologique de la France et de la Belgique*.

LE PIGMENT PURIQUE CHEZ LES VERTÉBRÉS INFÉRIEURS

Avec les planches IX-XII.

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	262
TECHNIQUE ET MATÉRIEL	264

PREMIÈRE PARTIE

MORPHOLOGIE

I. LE GUANOPHORE	269
II. NOMBRE ET RÉPARTITION DES GUANOPHORES	282
III. FORMATION DES GUANOPHORES	288
IV. MARCHE DE LA PIGMENTATION	296
V. RAPPORTS ANATOMIQUES DES PIGMENTS ENTRE EUX	301

DEUXIÈME PARTIE

CHIMIE

VI. COMPOSITION CHIMIQUE DU PIGMENT. — SES RÉACTIONS MICROCHIMIQUES	308
--	-----

TROISIÈME PARTIE

PHYSIOLOGIE

VII. CHANGEMENTS DE COLORATION	327
VIII. INFLUENCE DE LA LUMIÈRE SUR LE DÉVELOPPEMENT DU PIGMENT PURIQUE	331
IX. INFLUENCE DE L'ALIMENTATION	334
X. ACTION DES GLANDES À SÉCRÉTION INTERNE	341
XI. EXAMEN CRITIQUE DES THÉORIES QUI ONT CHERCHÉ À INTER- PRÉTER L'EXISTENCE DU PIGMENT PURIQUE	343
XII. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LE PIGMENT PURIQUE	349
RÉSUMÉ ET CONCLUSION	354

INTRODUCTION

Le pigment purique se présente exclusivement ⁽¹⁾ chez les Vertébrés inférieurs sous forme de cristaux incolores de guanine ou de guanates, contenus dans des éléments particuliers, les guanophores ⁽²⁾. Ceux-ci n'ont pas jusqu'à présent obtenu de la part des chercheurs l'attention qu'ils méritent. Tandis que les travaux consacrés à d'autres cellules pigmentaires, les mélanophores, sont innombrables, la liste des articles qui concernent les guanophores est vite close, si l'on en excepte ceux où ils sont simplement mentionnés.

Ces cellules fort répandues, très spéciales et connues depuis plus d'un demi-siècle, étaient jusqu'à ces dernières années assez négligées (cette sorte d'abandon tient sans doute à des raisons techniques car quelques-unes des méthodes de fixation et de coloration les plus couramment employées détruisent les guanophores ou les altèrent), si bien que c'est vraiment faire œuvre nouvelle que d'étudier leur cytologie, leur mode d'apparition, leur topographie précise et surtout, en même temps que leur signification physiologique, la manière dont elles réagissent à l'action de divers facteurs expérimentaux.

Ces questions apparaissent d'ailleurs du plus haut intérêt si l'on songe qu'elles se rattachent directement à deux grands problèmes de biologie générale : métabolisme des corps puriques, signification générale de la pigmentation.

J'ai limité mes recherches aux Vertébrés inférieurs. En outre de l'impossibilité où j'étais d'étudier la guanine dans toute la série animale, le fait que le pigment purique se présente chez

(¹) On rencontre souvent des concrétions uriques dans le rein de certains Reptiles, mais il ne s'agit pas là de pigment.

(²) Plusieurs termes servent actuellement à désigner ces éléments. Le nom d'*iridocyte* fait allusion à l'éclat dont ils brillent dans certaines conditions d'éclairage. Les noms de *leucophore* et d'*interferenzzelle* sont employés par la majorité des auteurs allemands. Je leur préférerai le terme moins usité de *guanophore* (créé par Schmidt (1912)) malgré son étymologie fâcheusement hybride, parce qu'il renseigne sur le contenu chimique caractéristique de la cellule, parce qu'il est l'homologue du terme mélanophore. J'ai rejeté le terme d'*iridocyte*, habituellement employé en France, pour éviter toute confusion avec les cellules de la choroïde des carnassiers qu'on désigne sous ce nom.

les Poissons, les Reptiles et les Batraciens sous des formes tout à fait comparables circonscrivait naturellement mon sujet. Je laisse donc complètement de côté les « iridoeytes » particuliers des Céphalopodes, les concrétions puriques des Arachnides et toutes les formations analogues qu'on rencontre chez les Invertébrés.

L'étude que j'ai entreprise comporte trois parties.

Dans la première, morphologique, j'indiquerai les caractères cytologiques, la topographie et le mode de formation des guanophores.

Dans la seconde, j'exposerai la nature et les caractères chimiques des cristaux de guanine et je fournirai quelques données sur lesquelles on pourrait peut-être fonder une coloration élective de ces éléments.

Dans la troisième, expérimentale, je décrirai l'effet sur le pigment purique de la modification de certains facteurs internes et externes : action de la lumière, variations qualitatives et quantitatives de l'alimentation, action de certaines hormones.

Je traiterai successivement chacune de ces parties.

Je suis particulièrement reconnaissant au Professeur PRENANT de m'avoir donné un sujet de thèse où l'observation histologique soit utilisée non seulement pour elle-même et pour mettre au point des questions de structure mais pour contrôler et interpréter des recherches et des expériences chimiques et biologiques. Je suis heureux de m'engager — après d'autres et en particulier après mon ami Jean VERNE ⁽¹⁾ — dans la voie nouvelle et féconde de l'histophysiologie. Bien que je ne méprise pas les notions et les recherches morphologiques qui sont le fondement nécessaire et primordial de tout travail histologique sérieux, je me sens particulièrement attiré par des études où le contrôle microscopique permet de donner toute leur signification aux données expérimentales.

Je désire ajouter un mot sur la manière dont j'ai fait ma bibliographie.

Sur la foi de leurs titres, j'ai dû lire de très nombreux articles qui ne concernaient que les mélanophores, tout en paraissant

(1) VERNE, Les pigments tégumentaires des Crustacés Décapodes. *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1921.

sant traiter du pigment en général. Ils ne figurent pas dans ma liste, à l'exception de ceux que j'ai été amené à citer dans ce travail par suite de leur valeur générale. Je serai satisfait si ce dépouillement, qui m'a demandé beaucoup de temps et m'a paru souvent fastidieux, pouvait éviter à ceux qui s'intéresseront après moi au pigment purique de lire des textes inutiles.

Pour ce qui est des travaux concernant réellement les guano-phores, je crois avoir été aussi complet que possible.

J'ai dû citer — exceptionnellement — certains articles de seconde main. Ce sont ceux que, malgré toutes mes recherches, je n'ai pu me procurer dans les bibliothèques parisiennes ; car il est actuellement impossible — et je le regrette — de faire à Paris une bibliographie complète.

TECHNIQUE

Animaux étudiés

Voici la liste des animaux que j'ai étudiés.

Les nombreux Poissons de mer qui y figurent ont été examinés au laboratoire de Roscoff ⁽¹⁾. Je les ai déterminés à l'aide de l'excellent ouvrage de M. LE DANOIS.

J'ai recueilli moi-même la plupart des Batraciens dans la région parisienne.

Envoyé en mission zoologique à Madagascar, j'ai eu la bonne fortune de pouvoir y récolter un certain nombre de Batraciens et de Reptiles qui m'ont permis d'étendre mes observations à un matériel tropical plus rarement étudié.

Poissons

Ordre des Sélaciens :

Raja punctata. Riss.

R. microcellata. Montagu.

Ordre des Téléostéens. — Sous-ordre des Lophobranches :

Syngnathus acus. Linné.

⁽¹⁾ M. le Professeur PÉREZ, qui dirige ce Laboratoire, voudra bien trouver ici l'expression de ma reconnaissance pour sa bienveillante hospitalité.

Siphonostoma typhle. Linné.

Entelurus aquoreus. Linné.

Nerophis lumbriciformis. Bp.

Sous ordre des Acanthoptérygiens :

Trachinus vipera. Cuvier.

T. draco. L.

Blennius pholis. L.

B. gattorugine. Lacép.

Gunellus vulgaris. Cuvier.

Callionymus lyra. L.

Gobius ruthensparri. Euphr.

G. paganellus. Linné.

G. minutus. C. et Val.

G. niger. L.

Cottus bubalis. Euphr.

Scomber scomber. L.

Trachurus trachurus. L.

Zeus faber. L.

Labrus bergylta. Ascanias.

Crenilabrus melops. L.

Gasterosteus aculeatus. L.

Spinachia vulgaris. Flem.

Atherina presbyter. C. et Val.

Sous-ordre des Malacoptérygiens :

Ammodytes lanceolatus. Lesauv.

Gadus luscus. L.

Motella tricirrhata. Bonap.

M. mustela. L.

Platessa vulgaris. Gottsche.

Lepadogaster sp.

Carassius auratus. L.

Belone vulgaris. C. et Val.

Salmo fario lacustris. L.

Sous-ordre des Apodes :

Conger vulgaris. Cuvier.

Batraciens

Ordre des Anoures :

- Hyla arborea*. L.
- Mantidactylus lugubris*. Duméril.
- Rana labrosa*. Cope.
- R. mascareniensis*. Duméril et Bibron.
- R. esculenta*. L.
- R. temporaria*. L.
- R. agilis*. Thomas.
- Bombinator igneus* (têtards). Laur.
- Pelodytes punctatus*. Dug.
- Alytes obstetricans*. Laur.
- Bufo vulgaris*. Laur.

Ordre des Urodèles :

- Salamandra maculosa*. Laur.
- Triton maculatus*. Schinz.
- T. cristatus*. Laur.
- T. alpestris* (larves). Laur.
- T. palmatus*. Tschb.
- Amblystoma tigrinum*.

Reptiles

Ordre des Chéloniens :

- Testudo graeca*. L.
- Emys orbicularis*. L.

Ordre des Sauriens :

- Crocodylus madagascariensis*.
- Lacerta viridis*. Gesn.
- Anguis fragilis*. L.

Ordre des Caméléoniens :

- Chamaeleo* sp.

Ordre des Ophidiens :

- Pelophilus madagascariensis*.
- Tropidonotus natrix*. L.

Les Batraciens représentent pour l'étude des guanophores un matériel de choix. La facilité avec laquelle on se les procure

en abondance et avec laquelle on les nourrit, leur grande rusticité sont bien connues des expérimentateurs. Au point de vue histologique, ils fournissent des objets très favorables : la peau des Anoures est facile à isoler et à étaler ; chez *Bufo*, elle est, il est vrai, épaisse, granuleuse et très glandulaire, mais chez *Rana* et surtout chez *Hyla*, elle est mince, lisse et se laisse facilement étudier dans tous ses plans.

Pour ce qui est des têtards, il faut préférer à ceux de *Bufo vulgaris* et de *Rana temporaria*, trop riches en pigment mélanique (d'origine ovulaire, épidermique) ceux de *Rana esculenta* qui donnent des préparations très lisibles.

Particularités de la technique histologique

Fixation. — On doit éviter les fixateurs fortement acides ou alcalins qui dissolvent la guanine. L'acide acétique, dans les conditions ordinaires, n'a pas d'action nuisible. Par contre, l'acide picrique doit être proscrit, car le picrate de guanine se forme facilement. Le bichromate de potasse, l'acide osmique, le sublimé, l'alcool chloroforme conviennent parfaitement. Le formol ne peut être employé que s'il est rigoureusement neutre : le procédé courant qui consiste à neutraliser le liquide en y plaçant des fragments de craie ne suffit pas toujours ; il vaut mieux neutraliser par la soude en présence de phénolphtaléine.

Personnellement, je me suis surtout servi comme fixateurs des liquides de Carnoy, de Zenker et de Flemming.

Inclusion. — J'ai surtout utilisé la méthode des coupes à la paraffine. Mais pour pouvoir étudier les rapports du pigment purique avec le pigment jaune, qui est soluble dans l'alcool, le xylol et le chloroforme, j'ai dû pratiquer aussi des coupes à la congélation, après fixation au formol neutralisé, par exemple.

Coloration. — L'hématoxyline s'est malheureusement révélée comme un colorant inutilisable. Dans la méthode régressive, lors du passage dans l'alun de fer, la guanine est dissoute et les guanophores ne peuvent alors que difficilement être distingués des autres cellules. Dans la méthode de Weigert, le perchlorure de fer contenant toujours des traces d'acide chlorhydrique dissout également le pigment.

Toutes les autres colorations courantes peuvent être employées ; l'acide picrique, qui doit être rejeté comme fixateur, peut être utilisé comme colorant par suite de la rapidité de son temps d'action dans ce dernier cas.

Examen à l'état frais. — J'ai complété et vérifié toutes les observations que je faisais sur des pièces fixées par de nombreux examens de tissus frais. Cette précaution est indispensable pour dépister les artefacts et pour faire un contrôle sérieux des résultats expérimentaux. J'ai examiné tantôt des fragments de peau, placés dans l'eau entre lame et lamelle, tantôt l'animal (têtard) vivant et entier, après l'avoir immobilisé par une trace d'anesthésique.

Je veux signaler ici le grand avantage qu'on trouve à étudier des étalements, plutôt que des coupes, lorsqu'il s'agit de cellules pigmentaires. Celles-ci, habituellement ramifiées dans un plan parallèle à la surface de la peau, n'ont qu'une faible épaisseur et apparaissent souvent, en coupe transversale, réduites à une trainée de grains. Même pour des études nucléaires, j'ai préféré utiliser des étalements dont certains (périt ine) ont, du reste, une minceur et une transparence très suffisantes pour être examinés à l'immersion.

Lorsqu'on veut avoir un bon étalement de la peau d'un têtard, il est nécessaire de débarrasser celle-ci de l'épiderme fortement mélanique qui la recouvre et qui gêne beaucoup l'observation. Dans ce but, j'essuyais mes têtards, avant de les dépouiller, avec un linge un peu rude, qui enlevait mécaniquement les couches de cellules superficielles sans altérer les tissus sous-jacents.

La recherche des guanophores est particulièrement facilitée par les propriétés physiques de leur contenu. Les cristaux de ces cellules prennent à l'examen sur fond noir un aspect brillant tout à fait caractéristique. On peut beaucoup plus simplement réaliser le même aspect en interposant un écran entre le miroir du microscope et la source lumineuse (éclairage oblique). On voit alors étinceler, comme autant d'étoiles, les guanophores de la préparation. Seules les cellules très jeunes, dont les cristaux sont encore de petite taille, ne présentent pas le phénomène. Ce procédé rend les plus grands services lorsqu'il s'agit de se rendre compte rapidement de l'abondance, de la répartition, de l'état de contraction ou d'expansion des guanophores,

Il ne peut être utilisé que pour des grossissements assez faibles et pour des préparations suffisamment épaisses (étalements, ou coupes inférieures au $1/200^e$).

D'autre part, l'examen des guanophores en lumière polarisée fournit de précieux renseignements sur les propriétés optiques de leurs cristaux. A faible grossissement, la méthode a les mêmes avantages que la précédente. Mais elle permet en outre d'employer de forts grossissements et d'étudier en détail la forme et le groupement des cristaux de guanine.

PREMIÈRE PARTIE

MORPHOLOGIE

CHAPITRE PREMIER

LE GUANOPHORE

On appelle guanophores des cellules pigmentaires caractérisées par la nature chimique, guaninique, et physique, cristalline, de leur contenu. Avec les mélanophores et les lipophores elles assurent presque exclusivement la pigmentation cutanée des Vertébrés inférieurs.

Quelques auteurs ont exclu les guanophores de la catégorie des cellules pigmentaires sous prétexte que la coloration qu'ils conditionnent n'est pas en rapport avec la couleur réelle de leurs cristaux. Je crois vraiment injustifié de refuser le titre de pigment à une substance qui joue un rôle aussi important dans la coloration des animaux.

Historique

La découverte du pigment purique a précédé de longtemps celle des cellules qui le renferment. Déjà, en 1716, RÉAUMUR

avait attiré l'attention de l'Académie des Sciences sur les lamelles brillantes qu'on trouve dans les écailles et dans le péritoine des Poissons. Ces lamelles furent bientôt employées dans la fabrication des perles fausses, et n'ont pas cessé de l'être depuis, sous le nom d'essence d'Orient ou de blanc d'ablette. Dans la première moitié du XIX^e siècle, les chimistes, tentés par la facilité avec laquelle ils pouvaient se procurer ce produit (qui contient presque exclusivement des cristaux) en commencèrent l'analyse. Ce n'est guère que vers 1850 que la nature cellulaire du pigment fut reconnue : BRÜCKE l'établit le premier sur le tapetum de l'œil des Poissons, sur la peau du Caméléon, et donna aux nouveaux éléments le nom de cellules à « pigment blanc et jaune » ou d'« interferenzzellen ». Après lui, d'autres auteurs, parmi lesquels je citerai VON WITTICH, LEYDIG, POUCHET ⁽¹⁾, revirent ces mêmes cellules, les baptisèrent de noms différents ⁽²⁾ et montrèrent la généralité de leur présence chez les Poissons, les Batraciens et les Reptiles. A l'instigation d'HERING, il devint classique d'admettre que chez les Batraciens les cellules à guanine contenaient souvent aussi du pigment jaune : ce fut la conception erronée des xantho-leucophores.

C'est seulement dans ces toutes dernières années et grâce aux travaux de W.-J. SCHMIDT que les guanophores furent observés et décrits d'un peu plus près.

Dans cette étude morphologique des guanophores je passerai successivement en revue leur forme, leur noyau, leur contenu cristallin et la structure de leur protoplasma.

Forme

On reconnaît à la grande majorité des chromatophores des propriétés contractiles. Il peut donc paraître étrange de décrire des types de forme pour des cellules que des causes diverses font passer de la contraction à l'expansion, ou maintiennent dans des états intermédiaires. Cependant si l'on tient compte du fait que les états extrêmes sont fixes pour une même cellule, très comparables pour les éléments d'un même tissu et caractéris-

(1) Pour l'histoire plus détaillée, voir FUCHS (1914).

(2) Cellule à pigment blanc, LEYDIG (1868), iridocyte, POUCHET (1876), ochrophore, KELLER (1895), cellule pigmentaire blanche, OSAWA (1896).

tiques du groupe zoologique dans lesquels on les rencontre, on peut, me semble-t-il, légitimement les considérer comme des types, permettant de classer les guanophores.

De plus, alors que tous les mélanophores paraissent capables de contraction et d'expansion, il existe des cas très nets où les guanophores, qu'ils aient l'apparence d'une cellule contractée ou d'une cellule en expansion, semblent bien ne jamais passer à la forme opposée. C'est ainsi que dans le péritoine des Batraciens et dans la queue des larves d'Urodèles les guanophores apparaissent toujours et exclusivement ramifiés, que chez quelques Poissons ils sont au contraire toujours plus ou moins polygonaux et munis de rares prolongements. Cependant, dans le tégument de beaucoup d'autres Poissons et de tous les Anoures, adultes ou larvaires, un même guanophore peut prendre l'aspect d'une cellule ramifiée ou l'aspect d'une cellule arrondie en passant par tous les intermédiaires : selon les conditions d'éclairage, par exemple, les chromatophores qui se développent autour des glandes peuvent apparaître, soit comme un anneau irrégulier de cellules allongées, subpolygonaux, plus ou moins engrenées, soit comme une couronne de prolongements enchevêtrés.

Je vais maintenant décrire les formes principales auxquelles je ramène les aspects très variés des guanophores. En général, ces cellules se développent et se ramifient presque exclusivement dans un plan parallèle à la surface libre du tissu, de sorte que sur des coupes transversales, elles apparaissent réduites à une mince traînée pigmentaire.

La forme la plus simple est la forme *arrondie-ovale* qu'on rencontre, par exemple, dans la couche superficielle du derme de la région dorsale chez les Anoures. Le pigment y est souvent dense, et fait de la cellule une masse régulièrement granuleuse, à contours nets et de coloration brunâtre.

Chez les Poissons (surtout dans la peau et chez les sujets jeunes) on voit des formes polygonales, à angles mousses, qui possèdent de trois à six côtés et peuvent se disposer en pavage. Mais les guanophores y présentent plus habituellement un contour mal défini et irrégulier. La fréquence de ces aspects invite à les grouper dans une catégorie spéciale, pour laquelle on pourrait proposer le nom de type *amibien*.

La forme *ramifiée* (Planche IX, figure 10) est beaucoup plus répandue dans l'ensemble des groupes, surtout chez les Reptiles et chez les Batraciens. Tantôt la cellule porte des prolongements ramifiés, anastomosés, dont les fines et nombreuses branches terminales ne contiennent souvent qu'une seule file de grains. Tantôt elle présente des prolongements courts, épais, lobés à leur extrémité, qui lui donnent un aspect rameux. Lorsque ces prolongements s'anastomosent, la cellule peut prendre l'aspect d'un réseau de grains à mailles irrégulières. Dans ces types rentrent la plupart des guanophores de la peau des Reptiles (surtout Sauriens), de la peau et du périotoine des Urodèles, du périotoine des Anoures, du périotoine et des écailles de certains Poissons.

Comme je l'ai dit plus haut, les guanophores ramifiés qu'on trouve dans la peau ventrale des Anoures — adultes ou larves — représentent l'état d'expansion de la forme arrondie-ovale précédemment décrite.

On peut considérer comme un cas particulier de la forme ramifiée les belles cellules *étoilées* qu'on rencontre chez les Poissons. Elles sont caractérisées par une disposition radiaire de leurs prolongements qui sont régulièrement ordonnés et ne s'anastomosent que rarement.

Je distinguerai de la forme ramifiée une forme *arborescente* par les caractères suivants : la cellule porte, autour d'un centre nucléé, un chevelu de branches hérissées, de prolongements broussailleux, anastomosés, qui lui donnent un peu l'aspect d'une cellule de Purkinje. Cette forme se rencontre en particulier dans la queue des larves d'Urodèles. C'est là aussi qu'on trouve une forme rare, décrite par SCHMIDT (1920) sous le nom de chromatophores *en étoile double* que peuvent prendre à la fois les cellules à guanine et les mélanophores. L'auteur n'ayant fait que signaler l'existence des guanophores en étoile double, sans en donner ni description ni figure, j'y insisterai un peu ici (Planche IX, figure 9).

Une même cellule se ramifie à la fois dans les deux régions sous-épidermiques du derme des deux faces de la queue. Elle se compose de deux systèmes de ramifications arborescentes, parallèles à la surface cutanée et réunis par une sorte de grosse tige cylindrique et flexueuse, qui traverse toute l'épaisseur des

tissus et qu'on suit très facilement en faisant varier la mise au point. La présence d'un seul noyau, situé soit dans la tige cylindrique, soit au centre de l'une des arborescences, et qui paraît pouvoir se déplacer, donne à ce système la signification d'une seule cellule. Dans certains cas j'ai vu la tige, qui est alors plus grosse et plus pigmentée, ne se terminer qu'à l'une de ses extrémités par une arborescence, l'autre étant munie d'un renflement ou de quelques courts prolongements. Cet aspect s'observe aussi bien à propos des mélanophores qu'à propos des guanophores et se rencontre souvent pour de nombreux chromatophores d'une même région. Aussi suis-je porté à croire que ces formations sont rétractiles, et que de même qu'une cellule développée dans un seul plan présente des alternatives de contraction et d'expansion, de même les cellules en « étoile double » sont capables d'envoyer leur pigment dans l'une ou l'autre de leurs arborescences ou dans les deux. Dans certains cas (qui concernent jusqu'à présent uniquement des mélanophores) j'ai observé que tout le pigment était contenu dans la tige intermédiaire, où se trouvait aussi le noyau.

Je n'ai jamais rencontré que dans la queue des larves d'Urodèles ces curieuses cellules en étoile double dont le rôle m'échappe complètement. Elles sont d'ailleurs plus faciles à étudier sur les mélanophores que sur les guanophores, qui la présentent plus rarement.

Anastomoses des guanophores entre eux.

Jusqu'à présent, je n'ai parlé des guanophores que comme des éléments isolés. Mais ils forment fréquemment entre eux des anastomoses.

Dans la peau ventrale des Anoures, ils se groupent par trois ou quatre autour des glandes et les entourent d'un réseau pigmentaire plus ou moins compliqué.

Dans le péritoine des Anoures et des Poissons, dans la peau de ces derniers, ils forment des réseaux très étendus, à mailles lâches ou serrées, mais dont les éléments restent en général bien reconnaissables.

Enfin dans le derme ou dans le péritoine de certains Poissons, parfois dans les deux, ils forment une couche dense,

épaisse, absolument continue, depuis longtemps décrite sous le nom de *stratum argenteum* ou d'argentine, et qui donne aux animaux leur aspect brillant et métallique. Les guanophores arrivent ici à un état de fusion maxima dans lequel aucune limite cellulaire et même aucun noyau ne sont plus visibles, de sorte que les anciens auteurs avaient refusé de reconnaître à cet amas de cristaux une origine cellulaire. Comme on le verra plus loin, l'étude du développement de l'*argenteum* m'a montré qu'il avait pour point de départ des cellules d'abord isolées, puis anastomosées en réseau. Les mailles de celui-ci, de plus en plus serrées, finissent par disparaître ; la fusion devient complète entre les guanophores. Dans certains cas (*argenteum* dermique de *Trachinus vipera*, région dorsale) le développement s'arrête au stade du réseau (Planche XII, fig. 1).

Il ne faut pas prendre pour des cellules anastomosées des figures qu'on observe fréquemment chez le têtard et qui consistent dans l'union, par un prolongement plus ou moins épais, de deux éléments nucléés, symétriques. Comme je le montrerai au chapitre III, il s'agit là d'attitudes en rapport avec la cytodiérèse. Les figures que BALLOWITZ a décrites chez *Trachinus vipera* sous le nom de « cellules en biscuit » me paraissent, contrairement à l'opinion de l'auteur, devoir être interprétées de la même façon.

Taille

Les auteurs qui ont mesuré les cellules pigmentaires ont exprimé la taille de celles-ci par la longueur de leur plus grand diamètre. Aussi la comparaison des chiffres devient-elle un peu arbitraire lorsqu'il s'agit d'un élément arborescent et d'un élément arrondi et n'exprime-t-elle pas le rapport des volumes. C'est dans cet esprit qu'il faut interpréter les chiffres fort variables qu'on obtient en mesurant les guanophores dans les différentes espèces.

Je me contente de citer ici quelques chiffres personnels, parmi les plus représentatifs, exprimant la longueur du diamètre moyen des guanophores. Mes résultats ne concordent pas toujours avec ceux des auteurs ; dans certains cas, les différences

sont telles que je crois qu'il faut les attribuer à une erreur de typographie.

Poissons : peau de *Triglus lucerna*, environ 10 μ de diamètre.

peau de *Blennius pholis*, 16 à 18 μ .

péritoine de *Siphonostoma typhle*, 60 μ .

péritoine de *Gadus luscus*, 80 μ .

Batraciens : péritoine de *Triton cristatus*, plus de 100 μ .

peau de *Hyla arborea*, 14 à 25 μ .

peau de têtard de *Rana temporaria*, 14 à 30 μ .

Reptiles : peau d'*Emys orbicularis*, 30 μ .

Noyaux

À l'état frais et sur les préparations montées sans coloration le noyau d'un guanophore est le plus souvent visible sous la forme d'une zone claire, ovulaire, où le pigment paraît moins dense qu'ailleurs et qui a été signalée par POUCHET sous le nom de « perforation ovulaire » (Planche IX, figure 7). Celle-ci disparaît lorsque l'élément est contracté au maximum. Dans des cellules en expansion et très aplaties (telles qu'on les rencontre dans le péritoine), il ne faut pas confondre la zone nucléaire avec l'espace extra-cellulaire de taille comparable que circonscrivent quelquefois deux prolongements courts, anastomosés entre eux. La zone nucléaire est presque toujours parsemée au moins de quelques cristaux.

Le noyau est en général aplati, comme la cellule elle-même. Il n'est pas toujours central, et, dans les formes arborescentes, peut occuper la base d'un prolongement. Mais son grand axe coïncide presque toujours avec celui de la cellule.

La taille du noyau varie naturellement selon les espèces et les tissus considérés comme on peut s'en rendre compte par ces quelques chiffres :

Peau de la plupart des Poissons, 3 à 5 μ .

Péritoine de *Siphonostoma typhle*, 10 à 12 μ .

Peau des Anoures, 3 à 8 μ .

Péritoine des Urodèles 20 à 25 μ .

Ecaillés d'*Emys orbicularis*, 5 à 8 μ .

La grande majorité des guanophores ne contient qu'un seul noyau. Les cellules binucléées peuvent très souvent être consi-

dérées comme des éléments pour lesquels la division protoplasmique subit un retard sur la division nucléaire ; le fait est particulièrement facile à prouver chez les Batraciens. Chez les Poissons, les auteurs décrivent des guanophores à plusieurs noyaux (jusqu'à six, POUCHET). Pour ma part, chez les jeunes alevins, je n'ai jamais vu que des formes uninucléées ; chez les adultes, les cellules possédant plus de deux noyaux m'ont paru tout à fait exceptionnelles.

Lorsqu'on l'étudie après une coloration convenable, le noyau du guanophore se présente sous deux aspects différents :

1° la membrane nucléaire et un gros nucléole nucléinien accompagné ou non d'un nucléole plus petit, apparaissent seuls colorés ;

2° le noyau apparaît parcouru par un réseau chromatique anguleux à épaississements nodaux, et dont les branches sont quelquefois épineuses. Le nucléole manque assez fréquemment.

Ces deux aspects, qu'on rencontre dans un même tissu et dans des cellules ayant des caractères morphologiques identiques, me paraissent moins caractériser deux types différents de guanophores que deux aspects fonctionnels d'une seule catégorie d'éléments.

Cristaux

Les cristaux de guanine ont été très peu étudiés. Les descriptions tout à fait insuffisantes qu'on en trouve dans la littérature ne s'accompagnent d'aucune figure, et aucun auteur n'a fait jusqu'à présent la revue de ces corps figurés en considérant la variabilité de leur taille, de leur forme, etc., suivant les groupes zoologiques considérés. La seule difficulté de leur étude consiste dans leurs dimensions très réduites qui obligent à se servir des plus forts grossissements et par conséquent à obtenir des préparations suffisamment minces. On peut les examiner soit sur des étalements, soit dans des dissociations. Les étalements ont l'avantage que les cristaux y conservent leur place et leur orientation à l'intérieur des guanophores. Par contre les dissociations permettent d'examiner la forme de chaque cristal et ses dimensions. En raclant la face interne de l'opercule ou le péritoine de certains Poissons, la peau ventrale de certains

Anoures, on obtient des préparations satisfaisantes. Un bon procédé aussi consiste à ouvrir l'œil de l'animal qu'on étudie, à en isoler la choroïde et l'iris et à les écraser dans un peu d'eau entre lame et lamelle. Chez les Anoures, la faible taille des cristaux et leur grande abondance à l'intérieur de chaque guano-phore rendent la pratique des dissociations indispensable.

Les cristaux libérés sont le siège de mouvements browniens très vifs qui se traduisent par des oscillations irrégulières et par de brusques variations d'éclairement. Tantôt un cristal paraît brillant, irisé, tantôt il est à peu près invisible, selon l'angle sous lequel le frappe la lumière. L'ensemble a un aspect scintillant tout à fait particulier.

La taille des cristaux est comprise entre $0,5\ \mu$ et $20\ \mu$. Elle est à peu près constante et très petite ($0,5\ \mu$ à $1,5\ \mu$) dans la classe des Batraciens, toujours supérieure mais très variable suivant les espèces chez les Poissons. De $1,5\ \mu$ à $2\ \mu$ chez *Zeus faber*, *Syngnathus acus*, elle oscille le plus fréquemment entre 2 et $6\ \mu$ (*Blennius*, *Crenilabrus*, *Gadus*, *Gasterosteus*, *Salmo*, *Carassius*). Chez *Alburnus lucidus* les cristaux des écailles atteignent $20\ \mu$. Chez les Reptiles, pour les espèces que j'ai examinées tout au moins, on trouve dans une même cellule des cristaux dont la taille, très inégale, est comprise entre 1 et $5\ \mu$.

L'aspect sous lequel se présentent les cristaux à l'observation microscopique varie suivant les groupes zoologiques considérés; les figures diverses qu'on rencontre dans une même cellule et qui se rapportent à un certain nombre de types correspondent aux différentes faces d'une même forme cristalline. Celle-ci est constante pour un animal donné, quel que soit le tissu ou l'organe considérés (œil, peau, péritoine).

Je trouve inutile de décrire les figures que j'ai observées, et je renvoie à la planche XI de ce travail qui en donnera, je pense, une idée plus claire qu'aucun texte ne saurait le faire. On constatera en examinant mes dessins que chacun des trois groupes zoologiques étudiés présente un ensemble de types qui diffère de celui des deux autres. Chez les Poissons, il existe une prédominance frappante de formes allongées. Chez les Batraciens, on ne rencontre que des formes courtes, dont les deux plus grandes dimensions sont subégales. Chez les Reptiles,

on trouve à la fois des formes courtes et des formes longues, dont certaines leur paraissent personnelles.

La détermination des cristaux ⁽¹⁾ est impossible à cause de leur trop petite taille chez les Batraciens et chez les Reptiles.

Chez les Poissons, les cristaux de guanine appartiennent dans la plupart des cas au système cubique. Chez certaines espèces (*Zeus faber*, *Lophobranchies*) on observe en assez grand nombre d'autres cristaux très biréfringents, appartenant par conséquent à un système différent, mais que leurs faibles dimensions rendent indéterminables.

L'aspect des cristaux est le même chez la larve et chez l'adulte. Les guanophores jeunes contiennent de petits grains dont il est impossible, même aux plus forts grossissements, d'identifier la structure. Mais aussitôt que celle-ci devient visible, dans la cellule plus évoluée, on retrouve les formes habituelles caractéristiques de la classe à laquelle l'animal appartient.

Il résulte de ces notions que s'il est impossible de rattacher un cristal à une espèce ou à un genre donné, il est par contre en général facile de dire s'il appartient à un Poisson, à un Batracien ou à un Reptile. Ce fait était intéressant à signaler.

Ces différences n'autorisent cependant pas à affirmer qu'il s'agit de corps chimiques différents.

L'orientation des cristaux dans les cellules est variable. D'une façon générale, ils sont plus régulièrement ordonnés dans les prolongements que dans le corps de la cellule, et leur orientation est d'autant mieux visible qu'ils sont plus allongés (Planche XI, Figure 5). Ainsi chez les Batraciens, le guanophore apparaît bourré de petits cristaux répartis sans ordre et prend un aspect congelé, « figé », selon l'expression de LEYDIG. Cependant les fines ramifications des éléments arborescents contiennent des cristaux disposés bout à bout en rangées parallèles. Chez les Poissons, les guanophores étoilés présentent une disposition radiaire tout à fait nette des cristaux dont les files convergent en général vers le centre cellulaire. BALLOWITZ (1913) signale chez *Trachinus vipera* un aspect particulier des guanophores dont la

(1) Je tiens à remercier M. le Professeur WALLERANT qui a bien voulu examiner mes préparations.

couche périphérique paraît parcourue de fines stries, à cause de l'orientation radiale de ses cristaux. Chez les Reptiles, la disposition de ceux-ci est variable, tantôt ordonnée, tantôt sans ordre.

Les cristaux ne demeurent pas toujours isolés. Ils peuvent s'accoler longitudinalement par paquets de trois ou quatre pour former de petits corps d'aspect stratifié, décrits par BALLOWITZ chez *Perca* et *Acerina*. Il est probable que les striations qui avaient été signalées comme un aspect structural de certains cristaux doivent être interprétées comme des accolements de plaquettes particulièrement minces.

Toutes ces formes cristallines, lorsqu'on les examine au microscope, en lumière naturelle et sur des préparations fraîches de peau ou de péritoine, brillent d'un merveilleux éclat : les guanophores prennent les colorations les plus vives ; tantôt ils sont bleu foncé, tantôt roses ou violets ; les teintes se maintiennent jusqu'à la mort de la cellule. Sur les préparations montées, examinées en lumière directe, les guanophores ont une couleur brunâtre, d'autant plus foncée que le pigment y est plus dense. Mais les cristaux isolés examinés à l'immersion dans des cellules fortement aplaties, où ils ne sont guère disposés qu'en une seule couche, sont toujours incolores. Les couleurs qu'ils présentent dans les tissus vivants sont donc des couleurs physiques ou structurales.

Chez les Vertébrés inférieurs, il faut attribuer aux guanophores :

l'éclat doré ou argenté des téguments,

la coloration blanche mate,

les colorations verte et bleue, produites par une action combinée des trois pigments irisant, jaune et noir, en l'absence de pigment vert ou de pigment bleu qu'aucun histologiste n'a signalé chez ces animaux.

Trois théories principales ont tenté d'expliquer le mécanisme physique de ces colorations :

la théorie de la cérulescence de POUCHET qui rattache la coloration à des propriétés particulières des tissus, de l'ordre de la fluorescence, et qui est abandonnée aujourd'hui ;

la théorie des milieux troubles (BRÜCKE, MANDOU) qui fait inter-

venir la diffraction de la lumière par des granules (pigmentaires ou non) contenus dans les téguments ;

la théorie de l'interférence (nombreux auteurs) qui attribue aux cristaux de guanine les propriétés des lames minces.

Il semble, d'après les travaux qui ont paru sur cette question, qu'il faille admettre à la fois ces deux dernières théories pour pouvoir rendre compte de tous les faits. Je n'ai rien à signaler ici de personnel ; et pour ce problème, qui est surtout d'ordre physique, je me contenterai de renvoyer aux articles de MANDOUX, de FUCHS et de SCHMIDT.

• Protoplasma

Pour étudier le protoplasma des guanophores, on peut d'abord l'examiner sur des préparations fraîches. Je me suis servi du procédé indiqué par BALLOWITZ et qui consiste à imbiber de sérum physiologique un petit fragment de tissu étalé sur une lame, à le recouvrir d'une lamelle et à luter ensuite à la cire. Les cellules pigmentaires restent vivantes plusieurs heures, et leurs mouvements sont parfaitement visibles.

BALLOWITZ, en appliquant cette technique aux téguments des Poissons osseux a observé dans leurs chromatophores les courants granulaires dont ils sont le siège et qu'il attribue à la structure très particulière de leur protoplasma. Pour lui, un mélanophore, un lipophore ou un guanophore sont constitués par une armature protoplasmique de canaux radiaires anastomosés dont les parois contractiles font se déplacer les grains de pigment qu'ils contiennent. La cellule elle-même a une forme fixe, invariable ; lors de la rétraction, ce sont seulement ses « prolongements pigmentaires » qui se raccourcissent ; lors de l'expansion c'est toujours dans une voie préformée que s'engage le pigment. Les mouvements sont plus ou moins rapides, selon la cellule qu'on considère. Chez les guanophores, ils sont lents, quoique visibles ; chez les mélanophores, au contraire, la contraction peut être presque instantanée.

J'ai fait à Roscoff, sur des espèces variées, des observations qui confirment dans leurs grandes lignes les descriptions — et la théorie — de BALLOWITZ. Comme lui, je remarque que deux

états d'expansion successifs d'une cellule sont rigoureusement identiques, quant à la direction et à la forme des prolongements et je refuse aux cellules pigmentaires du derme un pouvoir amiboïde; mais j'ai été moins frappé que lui par la régularité d'une disposition radiaire des grains dans les cellules. Dans beaucoup de guanophores, les cristaux m'ont semblé disposés comme au hasard et les travées protoplasmiques bien peu visibles; sans doute les objets choisis par l'auteur étaient-ils particulièrement favorables, et doit-on se garder de trop généraliser les phénomènes qu'ils présentent.

En tous cas, les faits que j'ai observés sur les Poissons ne s'appliquent en aucune façon aux Batraciens. Pour ceux-ci l'étude de préparations fraîches ne renseigne pas sur la structure protoplasmique des guanophores qui sont des cellules très chargées de pigment, peu mobiles, et j'ai dû utiliser exclusivement pour examiner cette structure des étalements ou des coupes dépigmentés.

Pour dissoudre la guanine, j'ai préféré aux acides minéraux étendus, recommandés par nombre d'auteurs, l'acide picrique ou le formol ordinaire; leur acidité est suffisante pour détruire rapidement les cristaux et leur action sur les tissus m'a paru moins nocive. Mais la méthode la plus élégante consiste à colorer la préparation par l'hématoxyline ferrique. Le passage dans l'alun de fer débarrasse les guanophores de leur contenu et ils apparaissent alors à faible grossissement sous la forme de grands éléments clairs, homogènes, presque transparents, qu'avec un peu d'habitude on arrive à reconnaître au milieu des autres cellules. Cet aspect est particulièrement net sur les étalements, mais c'est là aussi malheureusement où la coloration et le repérage sont particulièrement difficiles.

Sur des préparations de peaux de Batraciens colorées à l'éosine, j'ai pu observer quelquefois les particularités suivantes: le protoplasma d'un guanophore présente une structure finement alvéolaire qui correspond de façon évidente à la présence et à la disposition des cristaux, de sorte qu'on obtient une sorte de « négatif » de la cellule pigmentée. L'arrangement des mailles du réseau protoplasmique ne m'a jamais paru traduire une orientation définie des grains, autour d'un centre cellulaire par exemple.

Je n'ai jamais rencontré dans ces cellules d'enclaves d'autre nature que les cristaux de guanine.

Enfin je n'ai pas pu non plus mettre de chondriome en évidence dans les guanophores et je n'ai pu trouver aucun renseignement bibliographique à son propos.

Innervation

Je n'ai pas été plus heureux que mes devanciers et je n'ai observé jusqu'à présent aucune figure démonstrative des terminaisons nerveuses en rapport avec les guanophores. La question demeure donc ouverte de savoir si elles existent et si elles sont comparables à celles des mélanophores, depuis longtemps bien connues et décrites.

CHAPITRE II

NOMBRE ET RÉPARTITION DES GUANOPHORES

J'ai déjà signalé au début de ce travail que la présence de dépôts de guanine dans les tissus est un phénomène très général, ou que, du moins, l'on observe dans des groupes très éloignés ⁽¹⁾ (Annélides, Arachnides, Mollusques, Poissons...). Il est malheureusement encore trop tôt, la description des cas particuliers étant loin d'être terminée, pour essayer d'établir un lien entre des faits dont la modalité ainsi que la signification fonctionnelle sont probablement très différentes selon qu'il s'agit de Vertébrés ou d'Invertébrés.

Mais déjà l'étude comparative de l'abondance et de la répartition des guanophores chez les Vertébrés inférieurs m'a conduit à des concordances assez suggestives et à quelques notions générales.

(1) Il peut même se produire exceptionnellement chez certains Mammifères. Viacnow a décrit chez le Pore une affection particulière, la goutte à guanine, caractérisée par l'apparition de guanine dans l'urine de l'animal et par le dépôt de ce corps sous forme cristalline dans les tissus.

En ce qui concerne l'abondance du pigment purique, il est indiscutable que celle-ci décroît à mesure qu'on s'élève dans la série des Vertébrés. Cette diminution porte non seulement sur le nombre des cellules, mais aussi sur leur répartition, puisque certains des tissus qui contiennent des guanophores chez les Poissons en sont complètement dépourvus chez les Reptiles. **Étudions par exemple le péritoine.**

Chez les Reptiles, les séreuses ne contiennent que des mélanophores, tout au moins dans les espèces que j'ai étudiées. Je n'ai d'ailleurs trouvé aucun renseignement bibliographique à ce sujet.

Chez tous les Batraciens, le péritoine ne montre des cellules à guanine que dans la région antérieure : malgré d'assez fortes variations individuelles ou d'espèces, je n'ai jamais vu ces cellules s'avancer au delà de la région latérale.

Enfin chez la plupart des Poissons le péritoine présente des guanophores dans toute son étendue : de plus, certains organes ou tissus profonds sont constamment envahis par eux (vessie natatoire, méninges) et ils peuvent, ce qu'on ne voit jamais chez les Batraciens ou les Reptiles, former une gaine autour de certains vaisseaux.

Un autre fait général ⁽¹⁾ chez les Vertébrés inférieurs consiste dans la présence plus abondante du pigment purique à la face ventrale qu'à la face dorsale du corps. Cette remarque s'applique aussi bien au revêtement externe qu'aux organes profonds ou aux séreuses, aussi bien aux espèces tropicales qu'aux animaux européens. Quant à la pigmentation des faces latérales, son abondance diminue toujours à mesure qu'on se rapproche de la colonne vertébrale.

Pour le moment, je dois me contenter de mettre en évidence la netteté et la généralité de cette disposition, sans pouvoir en donner d'explication.

Étude des localisations

Je n'entreprendrai pas la description des diverses figures — souvent remarquablement fixes pour chaque espèce et par cela

(1) Les exceptions sont très rares (quelques Urodèles et Reptiles).

même utilisables en systématique — que la répartition des pigments dessine sur le corps des animaux. La signification de ces taches, de ces bandes, curieusement disposées quelquefois, n'intéresse pas directement la question du pigment.

La pigmentation et le dessin d'une région de la peau sont des caractères qui lui appartiennent en propre et qui semblent résulter de la réalisation de ses tendances ontogénétiques particulières. Les expériences de WEIGL (1913) ont en effet montré qu'un fragment cutané ventral de Salamandre greffé sur le dos d'une autre Salamandre garde intacts sa couleur et son dessin. Un fragment de peau d'Axolotl noir transplanté sur un Axolotl blanc garde sa coloration (il faut remarquer cependant que dans l'expérience inverse le greffon apigmenté est progressivement envahi par la mélanine). Enfin lorsqu'on transporte un fragment de peau d'une larve sur une autre larve, le greffon se métamorphose en même temps que le porteur, mais en prenant la coloration qu'il aurait eue sur le sujet auquel il a été emprunté. On voit par ces quelques exemples l'intérêt d'une question fort complexe et encore assez mal connue.

Je ne parlerai donc que des localisations tout à fait générales de la guanine.

Chez les Vertébrés inférieurs le pigment purique est principalement localisé dans l'œil, dans les téguments, dans les séreuses.

Dans l'œil, on trouve des guanophores au niveau de la choroïde et de l'iris aussi bien chez les Poissons et chez les Batraciens que chez les Reptiles.

On sait que le stroma irien se compose d'une zone vasculaire et musculaire, profonde, et d'une zone pigmentée, superficielle, qui contient deux couches de chromatophores. Les mélanophores forment une bande continue, une sorte d'écran au devant duquel sont disposés plus irrégulièrement des guanophores et des lipophores. Ces derniers ne sont séparés de la chambre antérieure que par une mince assise endothéliale : ils donnent à l'œil de certains animaux (Batraciens) un très bel éclat métallique ou un aspect moucheté d'or.

Chez certains Poissons, on trouve également de la guanine dans l'épithélium rétinien (KÜRSE et SEWALL, 1880). Personnelle-

ment je n'ai jamais pu confirmer le fait. Quoi qu'il en soit, il ne s'agit pas là de véritables guanophores, mais sans doute de simples cellules « pigmentées » suivant la distinction que PRENANT a établie ⁽¹⁾ et qui oppose aux chromatophores pour lesquels l'élaboration du pigment représente la finalité normale, les cellules « pigmentées » chez lesquelles la présence d'enclaves pigmentaires est anormale et accidentelle.

En ce qui concerne les téguments, je vais, à titre d'exemple, exposer avec quelque détail la topographie du revêtement cutané chez la grenouille, en insistant sur la localisation des cellules à guanine.

L'épiderme, composé de cinq à six assises de cellules, dont une seule représente le *stratum corneum*, peut contenir de nombreux mélanophores dans sa couche germinative; on n'y trouve jamais de guanophores, comme je l'ai déjà indiqué.

Une basale, qui paraît bien être quelquefois perforée par le prolongement des mélanophores, mais à travers laquelle je n'ai jamais vu passer de prolongements de guanophores, sépare la couche germinative du derme. On peut distinguer dans celui-ci une couche superficielle, le *stratum spongiosum* et une couche profonde ou *stratum compactum*.

Dans le *stratum spongiosum* se superposent une couche glandulaire et une couche vasculaire sus-jacente. La couche vasculaire, riche en vaisseaux sanguins et en lymphatiques, traversée en outre par les conduits excréteurs des glandes, contient de nombreuses cellules pigmentaires: mélanophores lipophores, guanophores, dont les rapports seront précisés plus loin. D'une façon générale, ces cellules sont aplaties parallèlement à la basale, qu'elles doublent, et tapissent la face supérieure de la glande, enserrant étroitement la base du col (Planche IX, figures 7 et 8 et Planche XII, figure 2).

La couche glandulaire contient quelques mélanophores; je n'y ai jamais rencontré de guanophores.

Enfin le *stratum compactum*, avasculaire, est aussi apigmenté.

Au-dessous du derme, un tissu sous-cutané que la présence

(1) *Traité d'Histologie*, tome I, p. 587.

de sacs lymphatiques réduit presque toujours à deux minces feuillets doublant les parois endothéliales de ces derniers, unit la peau aux plans profonds osseux ou musculaires. La lamelle la plus superficielle de ce tissu, qui est élastique, lâche et vasculaire, contient de très nombreux guanophores, accumulés en une couche dense, presque continue, au moins dans la région ventrale à laquelle elle contribue à donner un aspect blanc caractéristique.

Il faut signaler que ces guanophores ne se trouvent séparés de l'espace lymphatique que par une mince assise de cellules endothéliales.

Chez les autres Batraciens, la répartition des guanophores dans la peau est essentiellement la même. Bien entendu, l'absence de sacs lymphatiques chez les Urodèles fait que les guanophores contenus dans le tissu sous-cutané recouvrent presque immédiatement les muscles.

Chez les Poissons et chez les Reptiles, leur disposition est aussi tout à fait comparable. Il existe chez *Cottus bubalis*, par exemple, une couche très développée de guanophores sous-cutanés qui revêt les muscles d'un véritable *argenteum* et souvent leur reste adhérent quand on écorche ce Poisson. Chez les animaux écailleux, le derme, qui contient comme chez les Batraciens une couche de cellules à guanine et de lipophores superposée à une couche de mélanophores, pénètre dans chaque écaille, y forme soit une papille, soit un repli : dans ce dernier cas, il existe deux assises de cellules pigmentaires, correspondant aux deux faces de l'écaille.

Chez les Poissons, la face interne de l'opercule est presque constamment tapissée d'une lame brillante formée de guanophores accumulés.

Le péritoine pariétal antérieur des Poissons et des Batraciens contient toujours des guanophores, exception faite pour la Salamandre adulte.

Chez les Batraciens, leurs variations quantitatives suivant les espèces sont relativement faibles. Ils forment d'ordinaire un réseau à larges mailles qui se résout en cellules isolées et de plus en plus rares à mesure que l'on gagne les régions latérales.

Chez les Poissons, leur abondance est beaucoup plus variable. Dans quelques genres (*Gadus*, *Merluccius*, *Salmo*...) ils ne sont guère plus abondants que chez les Batraciens. Dans d'autres, au contraire (*Esox*, *Carassius*), ils forment une couche opaque, dont les éléments constitutifs ne sont plus reconnaissables et qui revêt le péritoine tout entier. Entre ces cas extrêmes on trouve tous les intermédiaires, sans que la gradation corresponde aucunement à une classification zoologique.

J'ai déjà dit qu'il n'existe pas de guanophores péritonéaux chez les Reptiles. J'ajouterai que chez aucun des Vertébrés inférieurs que j'ai étudiés, je n'ai trouvé de pigment purique dans le mésentère.

Malgré la présence tout à fait générale des guanophores chez les Vertébrés inférieurs, il existe quelques cas où leur absence a été signalée, soit comme un phénomène pathologique, soit comme une particularité de certaines espèces.

Parmi les Poissons, il semble bien que le genre *Helmichthydes* ne possède jamais de cellules à guanine. Celles-ci manquent — anormalement — chez certains exemplaires de *Salmo fario*, *Squalus cephalus*, *Chondrostoma*. Cette absence « pathologique » a été signalée par VON SIEBOLD (1863) sous le nom d'alampie.

Chez les Batraciens dits albinos (je crois que dans ce groupe l'absence de pigment n'est jamais absolue) on observe une diminution du nombre des guanophores comparable à la diminution du nombre des mélanophores.

EWALD et KRÜKENBERG (1883) n'ont pas trouvé de pigment purique chez le Protée, animal comme on sait normalement privé de mélanophores.

L'Axolotl a toujours passé pour être complètement dépourvu de pigment purique. J'ai donc recherché soigneusement les guanophores chez cet animal, dans les régions qu'ils occupent habituellement chez les autres Urodèles. Je n'en ai pas trouvé dans la peau ; par contre, j'en ai vu d'indiscutables dans le péritoine, sous forme de minces traînées cristallines ayant un reflet verdâtre assez particulier et que j'ai pu faire briller sur fond noir.

En ce qui concerne les Reptiles, SCHMIDT (1917) signale l'absence de guanophores chez *Voeltzkowia*, *Feylinia*, *Acrocordus*

et chez les Typhlopides. Il remarque que tous ces formes sont fouisseuses, de type aberrant, et conclut à une influence du genre de vie sur l'abondance des cellules à guanine. La rareté de ces espèces empêche malheureusement qu'on puisse se les procurer comme matériel d'expérimentation.

CHAPITRE III

FORMATION DES GUANOPHORES

Jusqu'à un récent article de SCHMIDT, il n'existait sur l'origine et sur le développement des guanophores que les notions les plus erronées. Les quelques auteurs qui s'étaient occupés de la question, frappés sans doute par une certaine analogie de coloration entre la guanine — souvent brunâtre en lumière directe — et la mélanine, se sont efforcés d'établir une filiation entre les deux types de cellules pigmentaires. Ils considéraient les guanophores tantôt comme l'origine, tantôt comme l'aboutissant des mélanophores.

C'est ainsi qu'EHRMANN (1896) interprète les cellules à guanine comme provenant du bourgeonnement des mélanoblastes, que KODIS (1889) décrit une sorte de vieillissement du pigment mélanique aboutissant à une coloration grisâtre, à une fonte partielle du contenu des cellules qui les transforme en guanophores. Pour REINKE (1894), au contraire, les « cellules grises » sont des mélanophores jeunes, bien qu'il avoue n'avoir pas vu souvent de formes de passage. Enfin un autre groupe d'auteurs considère les pigments comme capables de se transformer les uns dans les autres sous l'action de la nourriture (vox WIRTICH (1854), TERNIER (1908)), ou sous l'action de la lumière (SECE-ROV (1909)).

On peut s'étonner que les caractères chimiques si tranchés, si profondément différents des divers pigments n'aient pas gardé les auteurs de semblables erreurs. La simple observation histologique pouvait déjà les mettre en défiance contre des hypo-

thèses hasardeuses : le fait, sur lequel j'insisterai plus loin, que les mélanophores apparaissent toujours avant les guanophores, suffisait, par exemple, à ruiner la théorie qui les en fait dériver.

SCHMIDT, dans un travail paru en 1921 dans les *Anatomische Hefte*, mais qui, du fait de la guerre, ne fut reçu qu'en mai 1922 à la Bibliothèque de la Faculté, présente le fruit de ses recherches sur le développement des guanophores. Lorsque je l'eus entre les mains, j'étudiais depuis deux ans, sur un matériel très abondant, la formation des cellules pigmentaires chez les Poissons et chez les Batraciens; j'étais déjà en possession des résultats que j'expose ici, et que je n'avais pas voulu publier prématurément. Mon regret d'avoir été devancé ne m'empêche pas de reconnaître les qualités d'un travail que je confirmerai en grande partie. Les faits nouveaux que j'apporte me permettent cependant de concevoir d'une façon un peu différente, et plus complète, la formation des cellules à guanine.

Je crois être le premier à avoir étudié l'apparition et le développement des chromatophores sur des séries de divers têtards ininterrompues depuis l'œuf jusqu'à la métamorphose, car SCHMIDT, dans son article sur les guanophores jeunes, les étudie chez un têtard de 30 mm. dont, comme je le dirai, le pigment purique est apparu depuis longtemps. J'ai fait des séries analogues de larves d'Urodèles et d'alevins, de sorte que je possède à l'heure actuelle un millier de préparations concernant *Rana temporaria* et *esculenta*, *Bufo vulgaris*, *Alytes obstetricans*, *Triton palmatus*, *Salmo lacustris*, qui forment un matériel fort complet, où le développement des pigments se lit dans tous ses détails.

Je reviendrai au chapitre suivant sur la technique que j'ai employée, mais je signalerai ici les difficultés que l'on rencontre à étudier l'apparition des guanophores.

En premier lieu, la petite taille des éléments jeunes et surtout des cristaux que ceux-ci contiennent les rend très difficiles à voir. Ces éléments, incolores, échappent souvent à l'examen des étalements ayant une certaine épaisseur et ne sont guère décelables qu'à l'aide d'un microscope polarisant ou par l'exploration totale des tissus à de très forts grossissements. En outre, leur pigment est extrêmement sensible aux traces d'alcalis et

surtout d'acides qui sont normalement contenus dans les produits courants (par exemple le baume du Canada). Il faut donc employer des réactifs strictement neutres, sous peine de voir se dissoudre les cristaux qui permettent seuls de distinguer un guanophore de toute autre cellule ramifiée du même tissu.

Au point de vue de leur développement, je suis obligé d'étudier séparément, d'une part les guanophores des Poissons, d'autre part ceux des Reptiles et des Batraciens.

Ces derniers proviennent le plus souvent de la différenciation d'éléments mésenchymateux dont ils gardent, du reste, au moins un certain temps la forme allongée et finement ramifiée (Planche IX, figure 3). Il est impossible, dans l'état actuel de nos connaissances, de distinguer avant l'apparition du pigment la cellule qui va se charger de guanine d'une cellule conjonctive banale avoisinante : aucune technique ne m'a révélé jusqu'ici de stade pré-pigmentaire comparable par exemple à celui que J. VERNE a décrit (1921) pour les chromatophores des Crustacés. L'application des méthodes mitochondriales ne m'a donné aucun résultat. On peut donc, le fait est assez rare pour être signalé, ranger les cristaux de guanine parmi les enclaves cellulaires qui ne proviennent pas du chondriome.

Le futur guanophore se charge de pigment d'une façon absolument particulière. Alors que l'on peut voir se pigmenter pour ainsi dire grain par grain la cellule conjonctive qui donnera le mélanophore, et que, dans une même préparation, on rencontre tous les intermédiaires entre le jeune élément caractérisé par les quelques grains noirs de ses prolongements et la cellule adulte bourrée de mélanine, la recherche la plus minutieuse ne permet pas de remonter, pour les guanophores, au delà d'un stade où toute l'étendue de leur protoplasma est régulièrement pigmentée : les plus jeunes présentent des cristaux peu denses, il est vrai, mais disséminés à la fois dans leurs prolongements et autour du noyau, dont ils dessinent le contour. Tout se passe comme si, à son stade pré-pigmentaire, la cellule élaborait dans son protoplasma une solution de guanine capable à un moment donné de cristalliser brusquement.

On peut, sinon affirmer, du moins présenter comme une hypothèse très vraisemblable, le rapport qui existe entre la brusque

et abondante apparition de la guanine et la nature cristalline de celle-ci. Il est regrettable que nous soyons mal informés de ce qui se passe dans les cellules à contenu cristallin, au moment de l'élaboration de celui-ci. Je crois qu'on ne peut citer à ce point de vue que les travaux de POLICARD⁽¹⁾ sur la cellule hépatique, où l'auteur décrit la formation de cristaux d'hémoglobine aux dépens du chondriome. Il est intéressant de comparer ces observations aux miennes, puisqu'il en résulte que les cristaux peuvent se former dans les cellules suivant deux processus différents.

Un très jeune guanophore n'est donc pas caractérisé par la présence isolée de quelques cristaux, mais avant tout par sa faible taille et par la petite dimension des éléments cristallins qu'il contient (Planche IX, figures 2 et 3). Ceux-ci ont toujours l'aspect de grains, auxquels on ne peut reconnaître de forme précise. A mesure que la cellule croît, son protoplasma, qui devient plus abondant et dont les prolongements s'épaississent, se charge de cristaux plus gros et plus nombreux qui finissent par l'envahir complètement. La cellule est alors adulte et sa forme, qui ne rappelle plus l'élément initial, est très variable selon qu'on considère tel ou tel tissu.

La transformation qui, à partir d'une cellule conjonctive, aboutit au guanophore jeune, puis adulte, évoque l'idée d'une différenciation sur place. Cependant beaucoup d'auteurs (LIST, EIGENMANN, GILSON, PROWAZEK, LOEB) admettent que tous les chromatophores naissent en des points particuliers de l'organisme, d'où ils essaient ensuite dans les différents tissus. Non seulement je n'ai jamais vu de preuves de cette faculté migratrice des jeunes cellules pigmentaires, mais j'ai pu observer en chaque point où un animal présentera plus tard un amas important de guanophores, des éléments jeunes de plus en plus nombreux et de plus en plus évolués. Je crois donc à la transformation *in loco* d'une cellule conjonctive en cellule à guanine.

L'origine conjonctive des guanophores paraît être la plus fréquente et la plus générale : c'est la seule que j'aie pu noter pour les larves d'Urodèles que j'ai eues à ma disposition ; c'est la seule que SCHMIDT admette dans tous les cas qu'il a examinés.

(1) C. R. Société de Biologie 1911 et Bibliogr. Anat., t. XII, 1912.

Signalons à ce propos que la plupart des auteurs allemands reconnaissent aux mélanophores une origine unique, conjonctive. Cependant PRENANT ⁽¹⁾ a donné, à plusieurs reprises, des preuves de la pluralité de leurs provenances ; il est incontestable qu'ils peuvent dans certains cas dériver des leucocytes — et je possède pour ma part des préparations de Batraciens fort convaincantes à ce point de vue que ce n'est pas le lieu de décrire ici et que j'utiliserai plus tard.

Pour ce qui est des guanophores, chez les Anoures tout au moins, je crois pouvoir affirmer également la possibilité d'une origine leucocytaire. On voit en effet dans maintes préparations de têtards, en opposition avec les formes conjonctives que j'ai décrites plus haut, d'autres jeunes cellules à guanine, régulièrement ovalaires et munies tout au plus d'un prolongement court, non ramifié, qui donne un peu à l'élément l'aspect d'une graine au début de sa germination (Planche IX, figure 1). A un stade plus avancé, la cellule, qui paraît alors fixée, se ramifie davantage et sous sa forme adulte ne se distingue plus en rien du guanophore conjonctif évolué.

La jeune cellule ramifiée et la jeune cellule arrondie ne me paraissent pas pouvoir représenter l'état d'expansion et de contraction d'un même élément. Il est probable qu'à ce stade de début les chromatophores ne sont pas encore contractiles, comme le fait d'ailleurs croire l'absence complète des formes de contraction chez les jeunes mélanophores. D'autre part, on rencontre côte à côte les deux aspects de guanophores jeunes, alors qu'en général, les cellules pigmentaires d'une même catégorie sont au même stade de contraction dans un territoire donné. Enfin la cellule ramifiée et la cellule arrondie semblent avoir des noyaux un peu différents, les noyaux conjonctifs étant de taille supérieure et moins colorables.

Si donc les jeunes guanophores arrondis paraissent être d'origine leucocytaire, il reste à montrer comment ils se pigmentent et de quel lieu ils proviennent ; leur relative rareté et le fait que je n'en ai jamais vu dans les vaisseaux rendent la question assez difficile.

(1) *C. R. Association des Anatomistes*, 1909 et *Thèse de médecine* d'ASVADOUROVA, 1913.

Les cellules à guanine des Poissons se développent d'une façon différente de celles des Reptiles ou des Batraciens. Alors que la majorité de celles-ci proviennent d'une cellule initiale ramifiée, les guanophores des Poissons (alevins de *Salmo lacustris*), même leurs formes très jeunes, ont toujours l'aspect d'une couronne de grains entourant presque régulièrement un grand noyau ovalaire ou arrondi (Planche IX, figure 4). La couronne est quelquefois simple, le plus souvent double ou triple. Elle se compose de cristaux déjà gros, de taille très irrégulière. Jamais je n'ai observé de formes jeunes munies de prolongements pigmentés. Le contour de la cellule est presque toujours ovalaire, quoique plus ou moins régulier. On rencontre souvent deux ou plusieurs de ces éléments jeunes côte à côte.

Après avoir montré comment les cellules à guanine peuvent naître par pigmentation d'éléments préexistants, je vais maintenant décrire la division de ces cellules qui sont malgré leur différenciation apparente capables de se multiplier activement ⁽¹⁾.

Cette division peut être soit directe, soit indirecte.

La division indirecte des mélanophores était connue depuis longtemps (FLEMMING (1890), ZIMMERMANN (1893), lorsque SCHMIDT (1921) décrivit pour la première fois celle des guanophores. A la vérité, on trouve dans la planche que FLEMMING a jointe à son article, une cellule en division qui paraît bien être un guanophore, mais que l'auteur n'a pas décrite comme tel, car il ne connaissait pas cette catégorie de cellules pigmentaires.

A part quelques particularités, dont certaines sont à rattacher à la présence du pigment, la division des guanophores est de type tout à fait classique (Planche X, figures 1 et 2). Je me contenterai donc de signaler que, contrairement à la règle générale, les prolongements ne se rétractent pas toujours complètement au cours de la cinèse (je n'ai malheureusement pas pu observer ce qui se passe chez les Urodèles où ils sont très ramifiés) — que le centre cellulaire est en général peu visible — que, lors de la formation du fuscau, les cristaux sont rejetés à la

(1) On sait en effet qu'il existe une sorte d'antagonisme entre la différenciation et la multiplication. En règle générale, une cellule est d'autant moins capable de se diviser qu'elle est plus différenciée (Loi de PRÉNANT).

périphérie — enfin que souvent, mais non constamment, la division protoplasmique subit un retard considérable sur la division nucléaire, d'où la présence de nombreux éléments binucléés, présentant ou non un étranglement qui les sépare en deux moitiés symétriques (Planche X, figure 3).

Les figures de mitoses sont très rares. Deux ou trois seulement des préparations colorées que je possède (étalement de la peau totale d'un têtard) en présentaient plus de six. Fait curieux, les autres cellules de l'animal y étaient aussi le siège d'une activité mitotique intense; peut-être faut-il voir là un argument en faveur de la théorie qui admet l'existence de crises cinétiques périodiques auxquelles l'organisme entier serait soumis.

A la rareté des images de mitose proprement dites s'oppose, au moins chez les Anoures, la fréquence extrême des attitudes de division. Sous ce nom, je désigne des figures formées de cellules dont l'aspect et la disposition évoquent l'idée de division (Planche IX, figure 11 et Planche X, figures 3 et 11): tantôt ce sont des éléments binucléés qui s'étirent et s'étranglent en leur milieu; tantôt ce sont des cellules complètement séparées, plus ou moins ramifiées mais affrontées par deux faces planes, contiguës, parallèles et formant deux images en miroir, parfaitement symétriques; tantôt ce sont des cellules de taille petite et régulière, groupées par amas de trois à dix, ou même davantage, disposées en chaînette ou en étoile, souvent reliées encore les unes aux autres, qui éveillent l'idée de divisions successives et rapprochées. Dans certaines préparations où les témoignages nucléaires de la cinèse manquent complètement, ces différents groupements sont pour ainsi dire la règle et le guanophore isolé l'exception. Aussi m'est-il venu à l'esprit de chercher si quelques-unes de ces figures ne devaient pas être rapportées à une division directe du noyau. J'ai été assez heureux pour rencontrer diverses images d'étranglement nucléaire qui ne laissent guère de doute à cet égard. Je crois donc pouvoir affirmer que les guanophores des Anoures se multiplient également par division directe et par division indirecte, le premier procédé étant peut-être même le plus fréquent (Planche X, figure 11).

J'ai observé aussi, mais de façon exceptionnelle, un mode de division dont les aspects successifs peuvent se résumer ainsi. Dans une cellule, dont le noyau, pauvre en chromatine, contient

deux gros nucléoles, on voit ceux-ci s'écarter l'un de l'autre. Une cloison transversale, colorable comme la membrane nucléaire, et mince, se forme au milieu du noyau, qu'elle sépare en deux moitiés. Celles-ci s'arrondissent, s'écartent progressivement l'une de l'autre, de sorte qu'une bande protoplasmique pigmentée, d'abord très mince, puis épaisse, les sépare. Enfin le protoplasma se divise à son tour (Planche X, figures 4, 5 et 6).

Chez les Urodèles, où les attitudes de division manquent complètement, je n'ai jamais trouvé de figures témoignant d'une division directe. La division indirecte paraît encore plus rare que chez les Anoures. C'est par pigmentation que paraissent se former presque tous les guanophores.

Après avoir étudié la formation et la multiplication des guanophores, je voudrais ajouter quelques indications sur la destinée de ces cellules et la manière dont elles disparaissent après leur mort. Je traiterai cette question, entièrement neuve, d'après les observations que j'ai faites sur les Batraciens.

Chez le têtard et chez la très jeune Grenouille où les guanophores sont en plein développement, les formes d'altération sont tout à fait exceptionnelles dans les tissus d'un sujet sain.

Chez la Grenouille adulte en bon état, on ne rencontre de cellules désagrégées que dans une proportion qui correspond tout à fait au nombre, très faible, des formes jeunes de guanophores. Les cellules mortes disparaissent par phagocytose. Le phénomène indiscutable, mais difficile à voir, étant très discret, devient très aisé à observer dans certaines circonstances pathologiques ou expérimentales qui entraînent une altération en masse des guanophores d'une même région.

J'ai eu l'occasion d'examiner une grenouille, dont la peau était infestée par les kystes d'un Trématode que je n'ai pas pu malheureusement faire déterminer. Dans les zones du derme avoisinant les parasites, les chromatophores et en particulier les cellules à guanine étaient profondément altérés. Autour de celles-ci, autour de leurs prolongements fragmentés, de leur pigment épars, se trouvaient de nombreux éléments petits, arrondis, à noyaux excentriques, qui contenaient une quantité variable de cristaux de guanine. Ces images évidentes de phagocytose se répétaient autour des mélanophores et des lipophores alté-

rés ; quelquefois un même élément contenait à la fois des grains de mélanine et des grains jaunes ou des cristaux de guanine et du pigment noir — comme il est naturel qu'en renferme un même phagocyte qui les a successivement rencontrés sur son chemin (Planche X, figure 7).

J'ai essayé de provoquer des altérations des chromatophores du péritoine en injectant aseptiquement dans la cavité générale de Tritons adultes quelques centimètres cubes d'eau distillée. J'ai obtenu ainsi des destructions rapides de guanophores et j'ai vérifié que les éléments morts étaient, cette fois encore, éliminés par l'intermédiaire des phagocytes.

Je crois être dans tous ces cas en présence d'un mécanisme très général qui assure de façon continue, mais discrète, la disparition des guanophores altérés chez l'animal normal, et qui, dans certains cas pathologiques, prend une très grande importance.

CHAPITRE IV

MARCHE DE LA PIGMENTATION

Pour avoir des notions précises sur l'ordre d'apparition du pigment purique dans les différents tissus, il est nécessaire d'examiner pour chaque espèce des stades nombreux, successifs et très rapprochés. Il faut aussi commencer les séries, non seulement par des larves très jeunes, mais par des embryons extraits de l'œuf, car l'œil au moment de l'éclosion est déjà pigmenté.

La nécessité d'avoir un matériel abondant m'a obligé à limiter mon étude aux Poissons et aux Batraciens. J'ai suivi de très près l'apparition des guanophores chez *Salmo lacustris*, *Rana temporaria*, *Rana esculenta*, *Bufo vulgaris*, *Triton palmatus*, dont j'ai élevé, deux années de suite, des séries au laboratoire. J'ai complété ces observations sur *Alytes obstetricans*, *Bombinator igneus*, *Pelodytes punctatus*, sur *Gobius sp.*, *Blennius sp.*, *Lepadogaster sp.* et *Zeus faber*, dont je n'ai eu des exemplaires que plus irrégulièrement.

Des animaux élevés en séries, au moins pendant les premières semaines je prélevais chaque jour, à trois reprises, quelques exemplaires que je mesurais soigneusement. L'un était monté dans le baume si son épaisseur le permettait, et dans le cas contraire était éclairci et conservé dans le xylol. Sur un autre, après l'avoir examiné, à l'état frais je choisisais pour les étaler et les colorer les fragments cutanés les plus intéressants; enfin je dépouillais entièrement le troisième et montais sa peau par morceaux aussi grands que possible, en vue d'études topographiques. Plus tard, la disposition générale de la pigmentation étant acquise, je me contentais de faire une seule préparation par jour, puis une par semaine. Pour les Batraciens, j'ai conduit mes séries jusqu'à la métamorphose. Pour les Poissons, je les ai interrompues dans le courant du deuxième mois après l'éclosion.

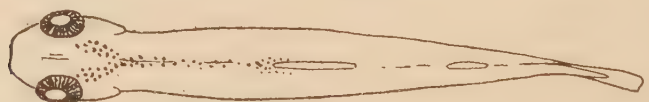
Chez les Poissons, les premiers guanophores apparaissent toujours dans l'organe visuel, au niveau de la choroïde et de l'iris. Comme ailleurs, il s'agit ici d'une différenciation sur place, non d'une migration. Chez *Salmo lacustris*, ces cellules apparaissent en général au huitième jour avant l'éclosion, sur des alevins dont la taille est alors d'environ 10 millimètres. Les chiffres n'ont d'ailleurs qu'un intérêt relatif car ils varient de façon très notable suivant les espèces et les variétés considérées ⁽¹⁾. C'est ainsi que M. MURISIER (1920) étudiant *Salmo lacustris* du lac Léman, que les auteurs considèrent tantôt comme une forme géographique, tantôt comme une variété de *Salmo lacustris* type Linné, tantôt même comme une espèce distincte, trouve les premiers guanophores choroïdiens chez un embryon de 8 mm. 5. D'ailleurs, même à l'intérieur d'une même race, j'ai observé des variations individuelles appréciables (je sais que je me sépare ici de M. MURISIER pour qui les pigments apparaissent à un moment très précis du développement embryonnaire) : parmi des alevins élevés dans les mêmes conditions, choisis rigoureusement du même âge et de même taille, que j'ai sacrifiés ensemble à la date approximative où devaient apparaître leurs premiers guanophores, j'ai trouvé un tiers des individus encore privés de guanine, les autres en étant normalement pourvus. J'ai obtenu, en répétant cette observation

(1) Mes résultats ont été obtenus sur des œufs de *Salmo lacustris* importés de Norvège et qui m'ont été gracieusement fournis par l'Aquarium du Trocadéro.

sur trois espèces de têtards, des différences encore plus frappantes. Je ne nie pas pour cela le rapport qui existe entre un certain état du développement d'un animal et l'apparition de son pigment purique, mais je ne vois pas ici la grande précision qu'a cru remarquer le zoologiste de Lausanne. Par contre, l'ordre d'apparition des divers pigments et la marche de la pigmentation me paraissent absolument fixes pour une même espèce.

Chez tous les Poissons, les guanophores de la choroïde et de l'iris sont les seuls qui apparaissent avant l'éclosion. Lorsque celle-ci date de quelques jours, l'organe visuel présente déjà un éclat argenté visible à l'œil nu, alors que même microscopiquement aucune trace de pigment purique n'est décelable dans le reste du corps.

Les premières cellules à guanine des téguments se montrent à la face interne de l'opercule, du 8^e au 10^e jour après l'éclosion, chez des alevins d'environ 18 mm. D'abord rares et isolées, elles augmentent rapidement de nombre, tandis qu'un



A. Alevin de 18 à 20 millimètres.



B. Alevin de 21 à 23 millimètres.

Fig. 1. — Marche de la pigmentation purique chez l'alevin de Truite.

centre nouveau de guanophores se forme en arrière de chaque œil dans la peau dorsale de la tête. Ces deux amas symétriques se fusionnent sur la ligne médiane et se développent le long de celle-ci jusqu'à la limite antérieure de la base de la première nageoire dorsale; en ce point se forme un amas et la progression (') semble subir un temps d'arrêt, après lequel elle conti-

(') Pour la commodité de la description j'emploie des expressions « dynamiques » qu'il ne faut bien entendu pas prendre à la lettre.

nue des deux côtés de la nageoire. Dans l'intervalle on voit des cellules apparaître en arrière de cette première nageoire et former une trainée qui la relie au bord antérieur de la seconde. Le même processus se répète, un amas basal antérieur se forme et, après un temps d'arrêt, les guanophores se disposent en deux files latérales qui se réunissent en arrière de la nageoire.

A ce stade, qui correspond à des alevins de 21 à 24 mm., la pigmentation purique, à part l'œil et l'opercule, occupe exclusivement la zone axiale de la région dorsale et s'est régulièrement développée d'avant en arrière, mais sans que se manifeste une disposition métamérique des cellules initiales, comparable à celle qui existe pour les mélanophores et qui a été signalée par VAN RYNERK (1903), BOLK (1908). A partir de ce moment, la pigmentation dorsale s'étend rapidement et gagne les flancs, puis la région abdominale. En même temps apparaissent, dans la partie antérieure du péritoine, des guanophores qui progressent peu à peu d'avant en arrière.

En somme, chez les alevins, le développement des guanophores du tégument externe suit une double direction cranio-caudale et dorso-ventrale. Il est intéressant de constater que la pigmentation mélanique se fait également suivant cette double direction (MURISIER).

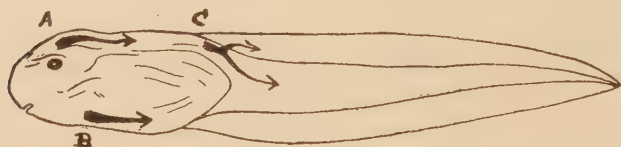
Chez les Urodèles comme chez les Anoures, la première localisation des cellules à guanine est également choroidienne, mais elle est moins précoce que pour les Poissons : chez *Rana esculenta*, elle coïncide à peu près avec l'éclosion.

Chez les Anoures, les premiers guanophores tégumentaires, ceux de la région rétro-oculaire, sont visibles environ cinq jours après la sortie de l'œuf et se développent dans le sens cranio-caudal ; mais presque aussitôt apparaît dans la paroi abdominale antérieure un centre pigmentaire médian très actif dont les éléments envahissent bientôt toute la région. Les guanophores dorsaux progressent le long de la ligne médiane, mais avant qu'ils atteignent la base de la queue, un centre nouveau de formation apparaît dans cette région. D'abord dorsal, il s'étend bientôt latéralement, de façon à donner naissance à deux centres droit et gauche situés à la base de l'axe caudal. Chacun de ces centres se développe vers la pointe de la queue

en une trainée irrégulière de cellules. Puis celles-ci essaient dans les limbes. Le limbe dorsal est presque toujours le plus pigmenté.

Pour résumer, on peut distinguer chez le têtard, trois centres de pigmentation qui sont par ordre d'apparition : un centre pair, rétro-oculaire, un centre impair, abdominal, un centre impair, caudal. Le sens de la pigmentation est donc ici cranio-caudal, mais non dorso-ventral.

L'âge auquel apparaît le pigment purique chez les têtards



A. Centre rétro-oculaire.
B. Centre abdominal.
C. Centre caudal.

Fig. 2. — Marche de la pigmentation purique chez le têtard.

est, plus encore que pour les Poissons, variable avec les espèces. Chez *Bufo*, il apparaît beaucoup plus tardivement que chez *Rana*.

Chez les Urodèles, la marche de la pigmentation est assez différente de ce que je viens de décrire. Il n'existe pas de centre rétro-oculaire ; la pigmentation du ventre commence avant celle du dos ; l'une et l'autre sont précédées par la pigmentation caudale, qui se fait suivant un type très particulier. On ne trouve pas ici de centre basal caudal comparable à celui des Anoures : les premiers éléments qui apparaissent sont disposés suivant deux lignes symétriques occupant l'extrême bord des limbes ; ils progressent de la base vers la pointe de la queue, en suivant ces lignes, et plus rapidement le long de l'inférieure. A un stade plus avancé, les limbes eux-mêmes se pigmentent (le limbe inférieur plus fortement), l'apparition des éléments nouveaux se faisant en des points de plus en plus rapprochés de l'axe.

L'alevin, le têtard, ne possèdent pendant une longue période que des cellules isolées. Les anastomoses entre guanophores

apparaissent chez les Batraciens à une époque qui précède de peu l'apparition des glandes.

Chez les Poissons, la formation de réseaux à partir de cellules isolées est précoce dans les régions où l'on rencontrera plus tard un *stratum argenteum*, en particulier dans l'opercule (*Gobius*, *Blennius*, *Lepadogaster*). Dans le péritoine, j'ai vu apparaître d'abord des guanophores isolés, qui forment ensuite par leurs anastomoses une succession de mailles lâches, allongées, où disparaît leur individualité. Souvent, un second réseau, dont les mailles sont perpendiculaires aux précédentes double le premier (Planche XII, figure 1). L'*argenteum* opaque et formé d'une telle accumulation de cristaux qu'aucun indice de son origine cellulaire n'y demeure visible, résulte de l'épaississement progressif des réseaux initiaux.

CHAPITRE V

RAPPORTS ANATOMIQUES DES PIGMENTS ENTRE EUX

Malgré le titre de mon travail et le soin avec lequel j'ai essayé de le limiter jusqu'ici aux guanophores, je crois indispensable, pour bien comprendre ceux-ci, d'établir leurs rapports avec les autres cellules pigmentaires, aussi bien au point de vue anatomique qu'au point de vue du développement.

C'est pour n'avoir pas suffisamment approfondi leurs observations topographiques que la plupart des auteurs ont admis l'existence de cellules contenant à la fois du pigment purique et du pigment jaune, les « xantholeucophores », et que, d'autre part, certains ont cru pouvoir affirmer l'existence d'une filiation entre les pigments. J'exposerai plus loin les faits par lesquels je pense pouvoir détruire ces notions. Il me paraît particulièrement important de le faire à cause des idées générales qu'elles peuvent suggérer. Si l'on observait en effet qu'une même cellule est capable de contenir et d'élaborer deux espèces de pigments chimiquement et morphologiquement distinctes, si l'on

pouvait montrer que les différents pigments proviennent les uns des autres et peuvent se succéder dans un même élément, cela transformerait, en les simplifiant, nos idées sur les pigments et la pigmentation. Mais il ne semble pas qu'on puisse s'engager dans cette voie.

J'étudierai successivement les tissus où l'on rencontre à la fois des guanophores, des lipophores, des mélanophores, et les tissus où l'on ne trouve qu'une seule sorte de chromatophores. J'ajouterai ensuite quelques mots sur la notion d'équilibre pigmentaire et sur l'ordre d'apparition des différents pigments.

La remarquable constance de la répartition de chaque sorte de chromatophores dans un territoire donné, chez des espèces très diverses, mérite d'être signalée dès maintenant. Elle avait été implicitement reconnue par nombre d'auteurs, mais je ne sache pas qu'on ait insisté beaucoup sur elle. A mon avis, il y a là une notion nouvelle, qui a besoin d'être précisée, mais qui pourrait peut-être servir un jour à éclairer le déterminisme encore si obscur de la pigmentation, et en particulier le rôle des facteurs locaux.

Cas où les trois pigments coexistent

Les mélanophores, les guanophores et les lipophores peuvent se trouver ensemble dans le péritoine (chez certains Poissons), dans la peau ventrale (chez quelques Poissons, Anoures et Reptiles et chez tous les Urodèles sauf l'Axolotl), mais c'est avant tout dans l'œil et dans la peau dorsale qu'on les trouve le plus constamment réunis.

Les cellules pigmentaires du péritoine sont disposées sur un même plan. Celles de la peau sont superposées et dans un ordre absolument constant pour toutes les espèces. Les lipophores sont les plus superficiels. Au-dessous d'eux se trouvent les guanophores. Les mélanophores forment une assise profonde, située en général immédiatement au-dessus de la couche vasculaire. Ils envoient des prolongements ascendants verticaux, qui peuvent atteindre la basale épidermique, et se glisser entre les autres cellules pigmentaires qu'ils entourent d'une sorte de corbeille et peuvent même recouvrir partiellement.

Dans la peau des Anoures, il existe entre les guanophores et les lipophores une corrélation remarquable (Planche X, figures 8, 9 et 10).

Chez le têtard, ils apparaissent à la même époque. En outre, presque en chaque point où du pigment purique se différencie dans une cellule, du pigment jaune apparaît dans une cellule située immédiatement au-dessus. Tantôt les deux éléments ont à peu près les mêmes limites et se superposent presque exactement. Tantôt les prolongements d'un lipophore arborescent débordent autour d'un guanophore arrondi : à une observation superficielle, les deux pigments paraissent inclus dans un seul élément ou xantholeucophore, dont la guanine occuperait alors le centre et serait répartie autour du noyau. Ce rapport anatomique entre les deux pigments n'est du reste pas absolu. Tous les auteurs qui ont décrit des xantholeucophores ont rencontré en outre dans le même tissu de purs guanophores et de purs xanthophores. Ces derniers, plus nombreux, affectent souvent une disposition en réseau chez le têtard d'un certain âge.

C'est HERING qui en 1869, à la suite d'observations sur la peau de la Grenouille où les rapports des cellules pigmentaires se maintiennent ce qu'ils sont chez le têtard, émit le premier l'hypothèse des xantholeucophores. Elle a été généralement admise depuis et sans grande discussion, puisque FUCHS pouvait écrire en 1914 dans son travail de mise au point sur le pigment : « Die Xantholeukophoren zeigen einen sehr komplizierten Bau der nicht immer richtig erkannt wurde, indem ein Teil der älteren Forscher, wie z. B. von WITTICH, diese Zellen in zweierlei Zellen unterschied, nämlich die gelben Pigmentzellen, und Iridocyten ».

SCHMIDT (1919) s'est violemment élevé contre la conception de HERING. Non seulement il lui oppose des arguments théoriques, mais il déclare avoir vu sur des coupes verticales de peau de Grenouille, deux chromatophores distincts superposés, dont chacun contient une seule sorte de pigment et un noyau.

J'ai fait, après lui, les mêmes observations, sur *Rana* et *Hyla*. Je les ai étendues et complétées sur des étalements de peaux de têtards, dont la minceur et la faible densité pigmentaire m'ont permis d'étudier des figures tout à fait démonstratives. Après traitement par l'alcool-éther, j'ai constaté que le prétendu xan-

tholeucophore, dont le pigment jaune était dissous, était représenté par un guanophore bien limité, parfaitement homogène, ne se distinguant en rien d'une cellule à guanine habituelle. J'ai pu, par étirement ou dissociation, décaler légèrement le lipophore qui recouvrait un guanophore et faire apparaître le noyau de celui-ci. En outre, j'ai rencontré de curieuses figures dans lesquelles une seule cellule jaune correspondait exactement par sa position et son contour à deux guanophores provenant de la division d'une cellule unique initiale. La distribution des deux pigments dans des éléments différents était ici évidente.

Dans des travaux nombreux et quelque peu monotones, BALLOWITZ a décrit chez les Poissons osseux (*Serranus cabrilla* et *scriba*, *Gobius minutus* et *pictus*, *Perca fluviatilis*, etc.) sous le nom d'*iridosomes*, des associations de cellules pigmentaires dans lesquelles un groupe de guanophores disposés en couronne enferme, le plus souvent en son centre, un mélanophore ou un érythrophore. Les cellules à guanine, régulièrement orientées « comme les pétales d'une fleur », sont de taille égale et souvent cunéiformes; elles s'anastomosent rarement. Chacune d'elles est munie d'un noyau, quelquefois de deux. Le mélanophore central apparaît suivant son état de contraction ou d'expansion, soit comme une boule opaque, très foncée, qui occupe l'espace circonscrit par la couronne, soit comme un chevelu de ramifications qui se glissent et s'épanouissent entre les guanophores et au-dessus d'eux. Le centre de cette cellule arborescente, plus ou moins rempli de pigment, contient un noyau bien visible.

J'interprète ces groupes de cellules à guanine comme le résultat de la division répétée d'un élément initial. Je crois difficile de faire intervenir ici, comme l'a fait BALLOWITZ pour les érythrosomes, une migration active et convergente des cellules jeunes vers certains points du tissu. Outre que cette hypothèse suppose aux guanophores des propriétés amiboïdes qu'il faut sans doute leur refuser, elle oblige à admettre l'existence dans les tissus de « centres attractifs » pigmentaires jusqu'à présent tout à fait inconnus.

Cas où les pigments sont séparés

On trouve uniquement des guanophores dans la peau ventrale de la plupart des Poissons, des Anoures et des Reptiles.

Dans le péritoine des Vertébrés inférieurs, au contraire, on peut rencontrer un seul, deux, ou trois pigments :

chez certains Poissons, il existe à la fois des guanophores, des lipophores, des mélanophores. Chez beaucoup d'autres, les guanophores sont seuls présents. D'autres enfin possèdent à la fois des guanophores et des mélanophores. Ce sont les plus nombreux.

chez les Batraciens, les mélanophores et les guanophores coexistent toujours ; on ne rencontre jamais de lipophores.

chez les Reptiles, le péritoine ne contient que des mélanophores.

Cas anormaux

Il résulte de ce qui précède qu'à l'état normal il existe entre les différentes substances chromatiques non seulement un équilibre quantitatif, mais encore une sorte d'équilibre dans la répartition. Dans certains cas anormaux, ces équilibres sont détruits. Je ne traiterai ici que des anomalies rencontrées dans la nature, réservant pour un chapitre suivant celles qu'on a pu obtenir par l'expérimentation.

Le mélanisme consiste dans une abondance exceptionnelle et élective de pigment noir, qui se manifeste non seulement par une augmentation du nombre des mélanophores en chaque point où on en rencontre normalement, mais encore par leur apparition dans des régions où les animaux de la même espèce en sont d'habitude dépourvus. Le phénomène est particulièrement fréquent chez les Poissons.

Deux anomalies pigmentaires plus rares ont été décrites par VON SIEBOLD (1863). L'une, qui atteint *Leuciscus rutilus Tinca chrysis*, *Idus melanotus*, consiste dans une augmentation considérable du pigment jaune, qui s'accompagne de la disparition totale du pigment noir. L'autre, ou alampie, observée chez *Cobitis barbatula* et *Acipenser ruthenus*, représente l'état d'un Pois-

son totalement dépourvu de ses guanophores, même oculaires, et ne possédant plus l'éclat argenté habituel à son espèce, de sorte que son ventre prend une coloration rose pâle.

Enfin SCHMIDT (1917) a signalé chez certains Reptiles fousseurs une absence totale élective des guanophores, dont j'ai déjà parlé à la fin du chapitre II.

J'opposerai aux cas que je viens d'exposer, où l'équilibre pigmentaire est détruit, certains états de pigmentation temporaires ou anormaux dans lesquels cet équilibre est conservé.

En période sexuelle, la coloration des animaux, tout au moins des mâles, est généralement exaltée. Ils revêtent alors leur « parure de noces ». J'ai eu l'occasion de bien étudier celle-ci, au laboratoire de Roscoff, sur *Callionymus lyra* où, comme on sait, elle est remarquablement belle. L'examen microscopique de fragments homologues de la peau d'animaux en état de repos et d'animaux en état d'activité sexuelle m'a révélé que non seulement aucun pigment nouveau n'était apparu chez ces derniers, mais que les proportions des chromatophores de diverses catégories avaient été à peu près conservées, malgré l'augmentation marquée du nombre total de cellules pigmentaires. Je suis arrivé à la même conclusion dans tous les autres cas de « parures de noces » que j'ai pu étudier microscopiquement et en particulier chez les Tritons *marmoratus* et *cristatus* mâles. La queue de ces animaux, lorsqu'ils sont en période d'activité sexuelle, présente une bande blanche très visible sur chacune de ses faces. Cette bande pourrait laisser croire à un développement électif du pigment purique au moment de la reproduction. Il n'en est rien. La rupture d'équilibre locale en faveur du pigment purique est compensée en d'autres points par une augmentation de la mélanine et du lipochrome, si bien qu'au total les rapports normaux entre les trois ordres de pigment sont maintenus.

L'anomalie qu'on nomme albinisme chez les Vertébrés inférieurs me paraît le plus souvent consister dans un affaiblissement considérable de la pigmentation qui atteint à la fois et au même degré les trois ordres de chromatophores (leur disparition totale me paraît exceptionnelle, je ne l'ai encore jamais observée). Les nombreuses descriptions de Poissons, de Batraciens et de Reptiles albinos qui ont été publiées sont malheureusement

inutilisables. En général, leurs auteurs ne se sont préoccupés que du pigment noir, sans doute parce qu'ils ne connaissaient que celui-là. Or, si chez les Vertébrés supérieurs, qui ne possèdent qu'un seul pigment, il y a identité entre un animal amélanique et un animal apigmenté, chez les Vertébrés inférieurs, on est obligé de faire une distinction entre les cas où la mélanine manque seule et ceux où les trois ordres de pigment sont absents. Dans les premiers, l'équilibre pigmentaire est détruit, dans les autres il est conservé. Pour les séparer, je proposerai de grouper, par exemple, sous le nom « d'albinos » tous les animaux caractérisés par une absence, totale ou presque totale, élective, de mélanophores et sous le nom d'« apigmentés » les animaux caractérisés par une absence totale ou presque totale de leurs différents chromatophores.

Ordre d'apparition des trois pigments

Quel que soit le groupe considéré, il est absolument constant et remarquable que la mélanine apparaît avant tout autre pigment (je laisse naturellement de côté le pigment noir d'origine ovulaire dont la présence ne paraît influer en rien sur la pigmentation embryonnaire proprement dite). La date d'apparition des premiers mélanophores étant très variable avec les espèces, je n'en parlerai pas ici.

Chez les Poissons et les Urodèles, le pigment jaune apparaît ensuite et précède le pigment purique. Chez les Anoures, comme je l'ai déjà dit, ces deux apparitions sont simultanées, mais les xanthophores se multiplient plus rapidement que les guanophores et se disposent en réseau.

Chacun des trois pigments apparaît pour la première fois dans l'organe visuel.

DEUXIÈME PARTIE

CHIMIE

CHAPITRE VI

COMPOSITION CHIMIQUE DU PIGMENT. SES RÉACTIONS MICROCHIMIQUES

Historique

La composition chimique du pigment purique a été d'abord uniquement étudiée chez les Poissons. D'une part, l'éclat métallique de ceux-ci avait très vivement excité la curiosité des chercheurs, d'autre part, comme je l'expliquerai par la suite, le pigment purique de ces animaux est beaucoup plus facile à isoler des tissus et à obtenir en quantité notable, et se prête par là beaucoup mieux à l'étude chimique que celui des Batraciens et des Reptiles.

EHRENBERG et HEINRICH ROSE (1833) qui les premiers analysèrent les cristaux des écailles des Poissons ne les définissent guère que comme une substance organique. SCHNITZLEIN (1837) et MATHIAS (1843) en font, l'un un phosphate de Calcium, l'autre un phosphate de Magnésium, mais sans en apporter de preuves suffisantes.

BRÜCKE reconnaît le premier qu'il se trouve en présence d'une base anorganique. En faisant agir de l'acide chlorhydrique étendu sur les cristaux il croit observer un dégagement de gaz. VOX WITTICH (1854) qui observe ce même dégagement et qui trouve du Calcium dans les cendres admet l'existence d'une combinaison calcique.

BARRESWILL (1861) fait faire un grand pas à la question en comparant les réactions de la guanine et les réactions des cristaux. Il les trouve identiques. VOIR (1863) confirme le résultat précédent et affirme que la guanine est contenue dans les cristaux des écailles à l'état de combinaison calcique.

qu'il met en évidence par la formation d'oxalate de Calcium. Mais, étudiant ensuite les guanophores de la vessie natatoire, il n'y rencontre plus de Calcium. KÜHNE et SEWALL (1880) qui analysent les cristaux contenus dans l'iris de *Abramis brama* les trouvent formés de guanate de chaux. EWALD et KRÜKENBERG (1883) distinguent les guanophores d'aspect brillant qui contiendraient du guanate de chaux et les guanophores d'aspect mat qui contiendraient de la guanine pure. Mais CUNNINGHAM et MAC MUNN (1883) critiquent ces résultats en disant que la présence dans la peau des Poissons de cristaux libres de sels de chaux est une cause d'erreur importante et que là où ils n'ont pas rencontré ces cristaux, comme par exemple dans la vessie natatoire, l'analyse ne leur a jamais révélé de Calcium.

En 1914, FUCHS, résumant toutes les données antérieures sur les Poissons conclut à la présence certaine de guanine, presque certaine de Calcium, dans les guanophores.

C'est LEYDIG qui en 1868 pensa le premier à comparer le pigment irisant des Amphibiens et des Reptiles au pigment blanc des Poissons.

KRÜKENBERG et EWALD (1882 et 1883) qui étudient en série de nombreux tissus contenant des guanophores y rencontrent de la guanine ; ils la caractérisent par deux réactions : 1° en traitant un fragment de tissu par de l'acide azotique concentré et en faisant l'épreuve de la murexide sur le résidu évaporé à sec ; 2° en faisant digérer artificiellement un fragment cutané par la trypsine et en cherchant à caractériser le chlorhydrate de guanine dans le résidu non digéré. Ils recherchent en outre la présence de Calcium dans ce résidu, en faisant agir sur lui de l'acide sulfurique après calcination, mais la non formation de cristaux de gypse dans le mélange les fait conclure à l'absence de Calcium. Les résultats qu'ils obtiennent par l'étude chimique ne concordent pas toujours, sans qu'ils puissent s'expliquer pourquoi, avec une étude microscopique du tissu correspondant. Ainsi, chez *Callopeltis*, *Lacerta*, *Siredon*, les guanophores qu'on voit dans les téguments ne se retrouveraient plus à l'analyse chimique.

KELLER (1895) traite par un acide des peaux riches en guanophores et voit se produire un développement de gaz. SCHMIDT

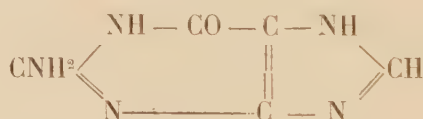
(1917) n'observe rien de semblable chez les Reptiles. Par contre il donne des preuves nouvelles que le composé purique révélé par la réaction de la murexide est bien de la guanine en signalant sa faible solubilité dans l'ammoniaque, la rapidité caractéristique de la formation du composé nitrique au cours de la réaction de la murexide, enfin la possibilité d'obtenir du picrate de guanine.

Il ressort de tous ces travaux, de valeur et de précision très inégales, que les guanophores des Poissons, des Batraciens et des Reptiles contiennent de la guanine. L'existence d'une combinaison calcique de la guanine paraît très probable chez les Poissons ; mais chez les Batraciens et chez les Reptiles, aucun auteur n'a pu l'établir sur des preuves satisfaisantes.

J'exposerai donc ici mes recherches personnelles sur les deux points suivants : caractérisation de la guanine, absence ou présence de Calcium.

Caractérisation de la guanine

On sait que la guanine (¹), $C^5H^5N^5O$
ou



qui appartient au groupe des bases puriques, est une 2-amino-6-oxypurine. Comme amine, elle a une fonction basique : l'atome d'oxygène qu'elle contient lui donne une fonction acide. Elle se combine donc avec les acides pour former des sels et avec les bases pour former des combinaisons métalliques : avec l'acide chlorhydrique, par exemple, elle donne du chlorhydrate de guanine $C^5H^5N^5O.HCl + H^2O$; avec la soude du guanate de soude $C^5H^5N^5O.Na^2O + 6H^2O$.

La guanine provient de la décomposition des nucléo-protéides.

Je rappelle que les nucléo-protéides forment la masse prin-

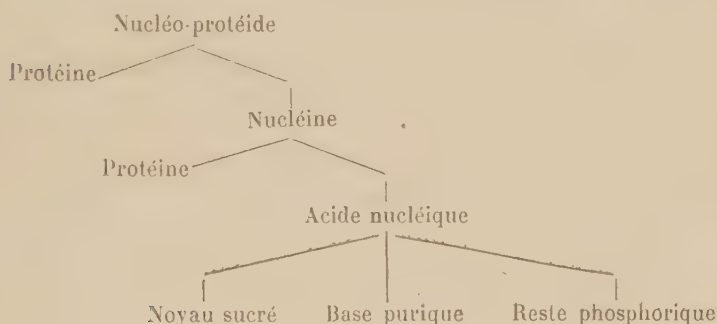
(¹) Découverte par UNGER en 1845 dans le guano péruvien.

cipale des noyaux animaux et végétaux. Ils représentent, par exemple, 95 0 0 du poids total de la substance sèche dégraissée de la tête des spermatozoïdes de Hareng, 75 à 80 0 0 du poids des noyaux des lymphocytes (LAMBLING). La pepsine chlorhydrique les dédouble en une protéine et en un corps insoluble, la nucléine de Miescher. Cette nucléine est dédoublée par les alcalis et par la trypsine en une substance albuminoïde et en un acide nucléique qui contient tout le phosphore du noyau.

L'hydrolyse *in vitro* de cet acide fournit :

- 1° des bases puriques (adénine et guanine) ;
- 2° des bases pyrimidiques ;
- 3° des corps hydro-carbonés ;
- 4° de l'acide phosphorique.

Ces dédoublements ont été schématisés par Lilienfeld dans le tableau suivant :



A. — Caractérisation macrochimique

Les téguments des Poissons sont les seuls dont on puisse, par des procédés mécaniques très simples, extraire en grande quantité le pigment purique. Le traitement des tissus les plus riches en guanophores des Batraciens et des Reptiles ne fournit que difficilement une quantité de substance utilisable pour l'analyse chimique.

Poissons. — En grattant la face externe de la paroi abdominale d'un Poisson très argenté — tel que l'Ablette — on détache de celle-ci des écailles chargées de pigment. On les broie ensuite et on les lave à plusieurs reprises à l'eau en ayant soin de sépa-

rer par décantation le pigment, plus lourd, des débris organiques. On recueille au fond du vase une poudre brillante composée presque uniquement de cristaux et qu'on peut achever de purifier par la centrifugation. On conserve cette poudre dans de l'eau légèrement ammoniacale. Elle constitue un matériel propre à l'analyse chimique, sur lequel on recherche commodément les réactions de solubilité, de coloration et de cristallisation de la substance pigmentaire.

Tous les résultats que j'ai obtenus indiquent que, comme l'avaient vu mes prédécesseurs, le pigment irisant des Poissons est composé de guanine.

En effet :

il est insoluble dans l'eau froide, l'alcool, l'éther, le xylol, le chloroforme, la glycérine ;

il est faiblement soluble dans l'eau chaude ;

il est très soluble dans toutes les bases, sauf dans l'ammoniaque, qui, même en excès et concentrée, dissout très mal les cristaux. Ce caractère est un de ceux qui permettent le mieux de distinguer la guanine de la xanthine, beaucoup plus soluble dans l'ammoniaque ;

il est très soluble dans tous les acides, sauf dans les acides acétique, formique, lactique, citrique ;

il est précipité de ses solutions, en présence de sels de Magnésium, par une solution ammoniacale d'azotate d'Argent, à l'état de purate argenticomagnésien ;

il est précipité d'une solution étendue par le ferri-cyanure de Potassium (en solution concentrée) sous forme de cristaux prismatiques brun jaune solubles dans l'eau chaude : réaction dite de Capranica. La xanthine n'est pas précipitée par le ferri-cyanure dans les mêmes conditions ;

il donne la réaction de la murexide. Une solution de cristaux dans l'acide nitrique est évaporée dans une petite capsule au bain-marie. On reprend le résidu sec par l'acide nitrique et on évapore à nouveau. La seule difficulté est ici de ne pas pousser trop loin ou de ne pas arrêter trop tôt l'oxydation. On porte sur le résidu jaunâtre une goutte de lessive de soude ou de potasse : on obtient une coloration rouge. On peut remplacer la soude ou la potasse par l'ammoniaque : la coloration est alors jaunâtre ;

il donne la réaction de Weidel : une petite quantité de poudre est mise à bouillir avec quelques centimètres cubes d'eau de chlore fraîchement préparée, ou avec un mélange d'acide chlorhydrique et de chlorate de potasse. On évapore au bain-marie à sec dans une capsule que l'on place ensuite sous une cloche remplie de vapeurs d'ammoniaque. Le résidu se colore en rouge cramoisi.

L'adénine et l'hypoxanthine ne donnent aucune de ces deux dernières réactions. La réaction de la murexide est positive avec la xanthine et avec l'acide urique, mais avec ce dernier la coloration obtenue est violette par la soude ou la potasse et rouge par l'ammoniaque. La xanthine, avec laquelle on obtient les mêmes colorations qu'avec la guanine, peut cependant être distinguée de celle-ci par la vitesse avec laquelle se forme le composé nitrique. La xanthine, mais non l'acide urique, donne la réaction de Weidel.

Une solution de pigment dans l'acide chlorhydrique au 1/10 donne après évaporation des cristaux de chlorhydrate de guanine tout à fait caractéristiques (cf. Pl. XI, fig. 2). Si la solution est suffisamment concentrée et si elle a été faite à chaud la cristallisation se produit par simple refroidissement. En ajoutant à la solution chlorhydrique une solution saturée d'acide picrique, il se forme de longues aiguilles jaunes, groupées en buissons, de picrate de guanine (Pl. XI, fig. 1), auxquelles se mêlent parfois des cristaux d'acide picrique. Par une technique analogue on peut obtenir la cristallisation des autres guanates ⁽¹⁾.

Voit a pratiqué des dosages d'azote sur les cristaux de la vesie natatoire d'*Argentina sphyraenea*. Les chiffres qu'il a obtenus (43,64 0/0) concordent de façon très satisfaisante avec celui que la formule de la guanine permet de calculer (46,36 0/0).

J'ai essayé de doser les corps puriques contenus dans les cristaux. J'ai employé la méthode de Haycraft Denigès ⁽²⁾.

La substance pigmentaire, séchée et pesée, est dissoute dans

⁽¹⁾ Les cristaux de nitrate de guanine sont également très caractéristiques. PLATEAU en a donné une très bonne figure dans ses « Recherches sur les Aranéides Dipneumones » *Mém. de l'Acad. Roy. de Belgique*.

⁽²⁾ DENIGÈS, *Précis de Chimie analytique*, 1923, p. 4150.

une quantité minima d'acide chlorhydrique à 1/10 (on porte à l'étuve s'il est nécessaire). On filtre et on lave en ajoutant l'eau de lavage à la solution. On complète à 100 centimètres cubes dans une fiole jaugée. On verse alors, en agitant, les 100 centimètres cubes de solution chlorhydrique dans 25 centimètres cubes de solution argenticomagnésienne N/10. On filtre et on prélève 100 centimètres cubes de filtrat correspondant à 80 centimètres cubes du liquide primitif. On ajoute à ces 100 centimètres cubes 10 centimètres cubes d'une solution N/10 de cyanure de Potassium et XX gouttes d'iodure de Potassium au 1/5. On verse goutte à goutte à l'aide d'une burette graduée de l'azotate d'Argent N/10 jusqu'à trouble persistant. On lit alors le nombre de centimètres cubes d'azotate d'Argent employés. Sachant que chaque molécule de guanine fixe deux molécules d'azotate d'Argent, on calcule facilement la quantité de corps puriques contenus dans la solution primitive (1).

Voici les résultats que j'ai obtenus :

Poids de substance pigmentaire 0 gr. 37 ; poids de corps purique trouvé 0 gr. 087.

Le corps purique (guanine) forme donc un peu plus du 1/6 de la substance pigmentaire.

Batraciens et Reptiles. — Dans ces deux groupes le traitement mécanique des téguments ne permet d'extraire que des quantités inutilisables de substance pigmentaire. Le fait tient non seulement à ce que celle-ci est ici moins abondante que chez les Poissons, mais surtout à ce que les dispositions anatomiques sont peu favorables : chez les Batraciens, par exemple, les guanophores, situés dans le derme, font partie intégrante des téguments, ne se détachent qu'avec ceux-ci et ne peuvent même pas en être séparés par broyage, à cause de l'élasticité des tissus. Nous avons vu avec quelle facilité, au contraire, les écailles des Poissons se laissent réduire en poudre.

(1) J'ai employé 9 cm³ 5 de solution de nitrate d'Argent.

Or, le poids moléculaire de la guanine est 151. Le poids moléculaire du nitrate d'Argent est 170. 170 grammes de nitrate d'Argent se combinent donc avec 75 gr 5. de guanine.

Par conséquent 1 centimètre cube de la solution au 1/10 contenant 0 gr. 047 de nitrate d'Argent, correspond à 0 gr. 00755 de guanine. 9 cc³ 3 représentent donc :

$$9,3 \times 0,00755 \times \frac{100}{80} = 0,9 \text{ gr. } 0871 \text{ de guanine.}$$

Il m'a donc fallu renoncer à extraire mécaniquement le pigment des téguments étant donné tout au moins les moyens que j'avais à ma disposition, et j'ai dû employer des procédés chimiques. Mes recherches ont porté avant tout sur les Grenouilles communes, *Rana esculenta* et *Rana temporaria*, que l'on peut se procurer en grande quantité (il m'a fallu en effet sacrifier pour ces expériences plusieurs centaines d'animaux).

J'avais d'abord pensé à extraire la substance pigmentaire — malgré sa faible solubilité dans l'eau chaude — en traitant les peaux par l'eau bouillante. Le procédé s'est révélé insuffisant; l'échec me paraît moins dû à la solubilité trop faible du pigment qu'à la difficulté avec laquelle l'eau pénétrait jusqu'à lui : à la température à laquelle j'étais forcé d'opérer pour que la solubilité soit suffisante, les albumines des tissus coagulaient et formaient une barrière qui empêchait la pénétration du solvant. Des peaux ayant bouilli plusieurs heures et que j'avais essayé de rendre plus perméables par broyage présentaient encore à l'examen microscopique de nombreux amas de pigment presque intacts.

J'ai cherché ensuite à utiliser la solubilité du pigment dans les alcalis et en particulier à l'extraire par la soude. Voici comment j'ai opéré : après avoir pelé un certain nombre de Grenouilles, après avoir lavé leurs peaux à l'eau distillée froide, fréquemment renouvelée afin d'éliminer autant que possible les sels solubles et le mucus, mais en ayant bien soin de ne pas prolonger l'opération au delà de quelques heures pour éviter les fermentations, j'ai traité ces peaux 12 heures par l'alcool à 95° puis 12 heures par l'alcool-éther, dissolvant ainsi les graisses (et aussi le pigment jaune). J'ai fait ensuite agir sur les peaux, préalablement séchées, de la lessive de soude au 10°, pendant un temps assez court (moins d'un quart d'heure) pour éviter l'hydrolyse des nucléines des tissus. J'ai été arrêté en ce point par de grandes difficultés. D'une part, lorsqu'on sèche à l'étuve une peau de Grenouille, on lui fait perdre l'eau qu'elle contenait, c'est-à-dire plus des 9/10 de son poids. Lorsqu'on met ensuite cette peau séchée au contact d'un liquide (dans le cas la lessive de soude), elle tend à reprendre par imbibition son poids primitif et gonfle, de plus, sous l'action de l'alcali. De sorte que pour baigner toute la masse de substance il est néces-

saire de lui fournir une quantité considérable de liquide; et comme l'on doit conserver à la solution employée son titre de 1/10 afin de pouvoir extraire tout le pigment dans les délais indiqués, on est obligé de faire agir sur les tissus une quantité de soude véritablement démesurée par rapport à la faible proportion de pigment qu'ils contiennent.

D'autre part, les téguments des Batraciens manifestent leur avidité pour l'eau non seulement en en absorbant une quantité considérable, mais en la retenant énergiquement. Ils ne restituent par compression qu'une partie de la solution sodique. La partie retenue est évidemment la plus riche en produits solubilisés.

Enfin le pigment purique n'est pas seul dissous par la soude; c'est là un sérieux inconvénient. Diverses substances protéiques, le mucus non éliminé par le lavage, passent dans la solution. Ces corps représentent une masse beaucoup plus importante que celle du pigment dissous, si bien que le liquide obtenu est extrêmement impur au point de vue auquel je me place et qu'il est difficile d'en éliminer les substances inutiles. En effet, la coagulation par la chaleur et la purification par le noir animal entraînent par adsorption une quantité notable de pigment.

Les essais de caractérisation de la guanine que j'ai tentés sur la solution sodique ont donc été assez incertains. Ne pouvant en tirer des conclusions fermes, j'ai précisé et complété les indications qu'ils me donnaient en reprenant les techniques déjà employées par mes devanciers (EWALD et KRUKENBERG).

1° Des fragments de peau sont plongés dans une capsule contenant de l'acide azotique concentré jusqu'à ce que le pigment ait complètement disparu, ce que l'on contrôle au microscope. On les enlève alors. L'acide, évaporé à sec, à feu nu, laisse un résidu sur lequel on fait la réaction de la murexide.

2° Les peaux à étudier sont plongées dans l'eau bouillante puis mises en contact avec une solution très légèrement alcaline de trypsine, jusqu'à digestion complète des tissus. On isole par précipitation gélatineuse le pigment purique des autres corps qui constituent avec lui le sédiment (mélanine, formations cornées, etc.) et qui précipitent beaucoup plus lentement, ce qui rend la séparation facile. La guanine peut alors être

caractérisée par la réaction de la murexide et par la formation du chlorhydrate.

Ces méthodes donnent le plus souvent des résultats positifs. Malheureusement elles ne sont pas rigoureuses ; d'une part elles sont inconstantes et, comme je l'ai déjà dit, n'ont pas mis la guanine en évidence chez certaines espèces de Vertébrés inférieurs dans les téguments desquels le microscope révèle cependant la présence indiscutable de guanophores. D'autre part, leur brutalité peut introduire dans la solution finale des bases puriques artificielles. C'est ainsi que, comme l'a montré récemment LEVENE ⁽¹⁾, l'acide azotique concentré et chaud est capable, même lorsqu'il agit peu de temps ($1/4$ d'heure), de faire subir aux nucléines contenues dans les tissus un commencement d'hydrolyse qui entraîne une libération partielle des bases puriques.

Malgré ces causes d'erreur possibles, on est autorisé à admettre que le pigment purique des Batraciens et des Reptiles est bien à base de guanine comme celui des Poissons. La microchimie va d'ailleurs nous montrer l'identité des réactions du pigment dans ces trois groupes zoologiques.

B. — *Caractérisation microchimique.*

Les raisons pour lesquelles j'ai été obligé de distinguer précédemment entre les Poissons, d'une part, les Batraciens et les Reptiles, d'autre part, n'ayant plus d'importance lorsqu'il s'agit de l'étude de coupes et d'étalements, et les réactions étant identiques pour toutes les préparations quels que soient les animaux qui aient servi à les faire, j'exposerai ici ce qui concerne l'ensemble des Vertébrés inférieurs.

J'ai constaté microchimiquement l'insolubilité des cristaux des guanophores dans l'eau froide, l'alcool, l'éther, le chloroforme, leur solubilité plus ou moins rapide dans les solutions acides ou alcalines et dans l'alun de fer.

Parmi les acides couramment employés, ceux qui ont l'action dissolvante la plus énergique sont les acides chlorhydrique, azotique, sulfurique, oxalique.

(1) LEVENE. *Journal of Biological Chemistry*, janvier 1923.

A 16° une solution à 1 0/0 d'acide chlorhydrique dissout les cristaux en quelques minutes.

A 16° une solution saturée d'acide picrique dissout les cristaux en 2 ou 3 heures.

A 16° une solution à 3 0/0 d'acide oxalique dissout les cristaux en 15 minutes.

L'acide chromique et l'acide acétique (non concentrés) ont au contraire une action très faible sur les cristaux. Ceux-ci sortent intacts au bout d'une heure d'une solution à 10 0/0 d'acide acétique, même lorsque le liquide est porté à une température de 25°.

La soude et la potasse ont sur les cristaux une action énergique et très comparable. Leurs solutions au $\frac{4}{10}$ font disparaître les cristaux presque instantanément; au $\frac{1}{150}$ il suffit de quelques minutes, au $\frac{4}{300}$ de moins d'un quart d'heure pour que les guanophores soient vidés. Lorsque on augmente encore la dilution, l'action est très ralentie.

La baryte dissout facilement les cristaux.

L'ammoniaque n'agit pas en solution faible, et même, comme je l'ai dit, l'eau ammoniacale peut être employée pour la conservation des cristaux.

La solubilité dans l'eau chaude n'a jamais été signalée. Cependant une préparation maintenue une heure dans l'eau à 40° ne présente plus trace de pigment purique. Au bout d'un quart d'heure celui-ci est déjà considérablement altéré.

Par comparaison avec les expériences que j'ai faites *in vivo* et que j'exposerai par la suite, j'ai essayé de dissoudre le contenu des guanophores à l'aide de solutions de pipérazine, d'Urodonal et d'Atophan. Ces corps, surtout le premier, font disparaître rapidement les cristaux.

Les réactions macrochimiques de cristallisation de la guanine sont inapplicables sur les coupes. La trop grande taille des cristaux qu'on cherche à obtenir, d'une part, — le fait que toute opération de cristallisation demande une dissolution préalable du pigment grâce à laquelle celui-ci diffuse dans toute l'étendue de la préparation, d'autre part, — enfin la

faible quantité de pigment contenu dans une coupe ont rendu tous mes essais infructueux.

Les réactions de coloration (de la murexide et de Weidel) ne sont pas plus utilisables en microchimie. Elles ne me paraissent pas assez sensibles pour donner des résultats positifs en présence de petites quantités de substance purique, de plus, elles sont extrêmement brutales et ne conservent point à la coupe une structure suffisante pour que la topographie même grossière de celle-ci soit conservée.

La réaction argentique (formation d'une combinaison argentique plus ou moins colorée) peut être effectuée de différentes façons :

par la méthode de Courmont et André ⁽¹⁾ ;

par la méthode au carbonate d'Argent de del Rio Hortega, que l'on peut appliquer sur des coupes, mais aussi sur des étalements minces, ainsi que l'a montré VERNE (1921) ;

par un procédé peut-être plus simple consistant à employer une solution d'azotate d'Argent de taux variable (1 à 5 0/0) à laquelle on ajoute de l'ammoniaque jusqu'à ce que le précipité d'hydrate d'Argent qui se forme au début et qui est soluble dans un excès d'ammoniaque se soit dissous. On plonge la préparation dans ce liquide pendant un temps variable (de quelques minutes à 1/4 d'heure) suivant la nature de la préparation à colorer, et en portant ou non à l'étuve.

Par l'action de ces diverses méthodes, le pigment purique prend une coloration allant du brun au noirâtre. La réaction n'est malheureusement pas spécifique. On sait que les méthodes argentiques peuvent colorer des corps très divers et qu'elles ont été appliquées à la mise en évidence de phosphate de chaux par exemple (méthode de Kossa).

Cherchant à caractériser microchimiquement la guanine pigmentaire par une réaction colorée, j'ai essayé d'utiliser les propriétés du noyau imidazol, et plus particulièrement des substances dans lesquelles celui-ci a conservé non substitué l'H du radical inide (xanthine, guanine) et qui donnent avec les corps diazoïques des réactions intensément colorées.

(1) *Journal de Physiol. et de Pathol. générales*, 1905.

J'ai cherché à faire réagir un sel de diazoïque d'abord *in vitro* sur la guanine, puis sur des coupes contenant du pigment purique. J'ai opéré avec du chlorhydrate de diazobenzène obtenu en traitant de l'aniline par le nitrite de soude en milieu chlorhydrique :

On mélange dans un Becherglass 4 gr. 65 d'aniline avec 100 centimètres cubes d'acide chlorhydrique normal (3 gr. 65). On agite jusqu'à dissolution ; au cas où l'aniline ne serait pas très pure il est prudent d'en mettre un léger excès (15 cgr. par exemple). D'autre part on dissout 3 gr. 45 de nitrite de soude dans 50 centimètres cubes d'eau froide. On place le Becherglass dans un appareil réfrigérant. Lorsque la température atteint environ -5° on verse peu à peu le nitrite dans la solution chlorhydrique d'aniline en agitant constamment.

On ajoute à un centimètre cube du réactif ainsi préparé quelques gouttes d'une solution chlorhydrique de guanine, puis quelques gouttes d'une solution aqueuse de soude. Il se produit aussitôt une coloration rouge foncé intense. En remplaçant la soude par de l'ammoniaque, on obtient une coloration analogue ; en la remplaçant par de la chaux, on obtient une coloration jaunâtre.

J'ai essayé d'appliquer cette réaction directement aux tissus, en traitant des coupes riches en pigment, collées sur lame et déparaffinées, par la solution de diazoïque additionnée d'une goutte de solution étendue de soude : avec une rapidité plus ou moins grande et sans que la quantité de pigment présente paraisse influencer, il se développe une coloration rouge intense qui envahit rapidement toute la préparation (on assiste en même temps à un dégagement d'azote), et qui ne permet de caractériser électivement aucun élément du tissu.

Il me fallait expliquer la raison de cette coloration massive des coupes. Dans ce but, j'ai traité *in vitro* des corps très divers par le réactif diazoïque en milieu alcalin. J'ai obtenu avec la cholestérine, la tyrosine, l'hémoglobine, les solutions sodiques de protéines des réactions colorées très comparables à celle que la guanine m'avait fournie. Il n'était pas étonnant, dans ces conditions, que les tissus traités prissent une coloration diffuse.

J'ai essayé alors de remplacer l'aniline par la xylydine dans la fabrication du diazoïque pour voir si le nouveau corps formé

se montrerait plus électif vis-à-vis de la guanine. Les résultats n'ont pas été supérieurs à ceux que j'avais d'abord obtenus.

Bien que j'aie échoué dans ma tentative, la question ne me paraît pas devoir être abandonnée. Peut-être pourrait-on, à partir d'autres amines (toluidine, etc.), obtenir un diazoïque donnant avec la guanine une coloration qui permette de la caractériser. Les corps théoriquement susceptibles d'être étudiés à ce point de vue étant fort nombreux, j'ai dû renoncer faute de temps à poursuivre mes recherches dans ce sens.

Recherche du calcaire

1^o *Poissons*. — La plupart des auteurs admettent, nous l'avons vu, que la guanine existe dans le pigment irisant des Poissons sous forme d'une combinaison calcaïque. Pour vérifier ce fait, j'ai dosé le Calcium sur la poudre de cristaux préparée comme il a été dit plus haut, et j'ai eu la surprise d'obtenir des résultats tout à fait contradictoires avec ceux qui étaient classiquement admis. Il faut opérer de la façon suivante :

Mettre dans une capsule de platine tarée une certaine quantité de poudre de cristaux (conservée en solution ammoniacale). Après avoir évaporé lentement à sec, et porté à l'étuve à 110° pendant trois heures, peser le résidu sec, puis le calciner à feu nu. Le charbon disparaît très facilement sans qu'il soit nécessaire d'employer le mélange sulfo-nitrique. Peser à nouveau pour avoir le poids de cendres. Celles-ci, reprises par quelques centimètres cubes d'acide sulfurique pur dilué au quart environ, sont mises dans un verre de Bohême. La capsule est lavée avec de l'eau acidulée par l'acide sulfurique ; les eaux de lavage sont ajoutées à la solution. On complète à 50 centimètres cubes. On ajoute alors 20 centimètres cubes d'une solution de chlorure d'ammonium à 20 0/0 et 5 centimètres cubes d'ammoniaque pure (en présence de phosphates et de Magnésium il se ferait un précipité ; le liquide restant clair, il ne contient donc pas de Magnésium). On verse dans le mélange de l'acide acétique cristallisable jusqu'à virage du rouge de méthyle (réaction acide, P_H entre 4,8 et 5,2). On porte à ébullition franche. On retire du feu et on ajoute 5 centimètres cubes d'oxalate d'Ammonium pur à 5 0/0. On couvre et on laisse reposer 24 heures.

On filtre sur un filtre sans plis, on lave le précipité trois ou quatre fois avec quelques centimètres cubes d'eau bouillante jusqu'à ce que les eaux de lavage ne réduisent plus le permanganate de Potassium. On reprend le précipité dans le verre de Bohème avec la pissette à eau bouillante après avoir percé le filtre. On lave celui-ci sans retirer le verre avec 5 centimètres cubes environ d'acide sulfurique au 1/4 bouillant. Le liquide total est alors porté juste à l'ébullition et titré au permanganate de Potassium M/100.

Chaque centimètre cube de permanganate employé correspond à 1 milligramme de chaux. J'ai appliqué cette méthode à quatre échantillons de poudre de cristaux de provenances différentes. Voici les résultats que j'ai obtenus :

Poids de substance sèche	Poids des cendres	Calcium dosé	Calcium 0,00
—	—	—	—
0 gr. 1530	0,0020	0,0015	9,80
0 gr. 1909	0,0024	0,0020	10,025
0 gr. 1030	0,0019	0,0015	14,58
0 gr. 1000	0,0024	0,0019	19,00

Les très faibles quantités de cendres obtenues doivent à mon avis faire rejeter l'hypothèse que la guanine existe dans les cristaux à l'état de combinaison minérale. Je suis sur ce point en contradiction avec Voit qui trouve, après calcination des cristaux, des « quantités importantes de cendres fortement alcalines et donnant un abondant précipité d'oxalate de chaux ».

Les chiffres, fournis par mes expériences, exprimant la teneur en Calcium oscillent autour de 14 0/00. On remarquera leurs variations considérables selon l'échantillon examiné. Les différences, qui vont du simple au double, sont inexplicables si le Calcium trouvé provient d'une combinaison calcique de la guanine dont les proportions sont évidemment constantes. Mais si, comme je le pense, il s'agit de Calcium provenant d'impuretés, telles que débris de peau, écailles etc., dont il est impossible de se débarrasser complètement et dont les proportions varient avec chaque échantillon, les différences obtenues se comprennent d'elles-mêmes.

La présence de cristaux libres de phosphate de Calcium

signalée par CUNNINGHAM et MAC MANN dans la peau de certains Poissons, l'existence dans les écailles non pigmentées d'une quantité de Calcium appréciable, viennent à l'appui de ma manière de voir. Si VOLT a obtenu dans ses dosages des quantités de Calcium très supérieures aux miennes, c'est sans doute parce qu'il a opéré sur un produit insuffisamment débarrassé de ses impuretés.

2° *Batraciens et Reptiles*. — Faute de matériel, j'ai dû abandonner la recherche du Calcium chez les Reptiles et me limiter aux Batraciens (Grenouilles). Les difficultés d'extraction du pigment déjà signalées m'ont obligé à doser le Calcium dans les peaux elle-mêmes. La certitude où j'étais que le calcaire s'y trouvait représenté dans d'autres éléments que les cellules à guanine m'a obligé à doser comparativement celui-ci dans des peaux très riches en pigment (peaux ventrales) et dans des peaux moins fortement chargées de ce dernier (peaux dorsales). Si je trouvais entre ces divers échantillons des différences constantes, et suffisantes, au point de vue de leur teneur en calcaire, en faveur des fragments abdominaux, j'étais autorisé à rapporter ces différences à la présence du pigment.

Voici la technique que j'ai suivie :

3 lots de peau ventrale, 3 lots de peau dorsale sont lavés à l'eau, à l'alcool, à l'éther (voir plus haut), puis mises à sécher quelques heures à l'étuve. On les calcine à très petite flamme ; on obtient un charbon poreux. Lorsque la combustion et la crépitation se ralentissent, on augmente la flamme et on calcine fortement au rouge vif.

On fait ensuite des attaques répétées par quelques gouttes d'acide sulfurique et d'acide azotique, en recalçant, jusqu'à ce qu'on obtienne des cendres blanches. Sur celles-ci, on dose le Calcium par la méthode habituelle. Je ne me dissimule pas les causes d'erreur que comporte ce procédé :

1° J'ai déjà signalé que dans les circonstances défavorables où l'on est forcé d'opérer, c'est-à-dire en présence de tous les éléments de la peau, la quantité de Calcium trouvée doit être en grande partie rapportée à des formations non pigmentaires (sang, mucus, et même dépôts calcaires, etc.) ;

2° Parmi les sels de Calcium contenus dans la peau et non dans les guanophores, beaucoup sont sans doute solubles. Le

lavage, qui ne peut être rigoureusement identique pour deux échantillons différents, les entrainera donc en quantité variable, et la difficulté d'un dosage comparatif en sera très augmentée.

Quoi qu'il en soit, voici les résultats que j'ai obtenus :

	Peau abdominale riche en pigment	Peau dorsale pauvre en pigment
1 ^{er} dosage	3,4 0/00	2,4 0/00
2 ^e »	4,6 0/00	0,87 0/00
3 ^e »	8,7 0/00	6, 0/00
4 ^e »	5,55 0/00	3,43 0/00
5 ^e »	2,39 0/00	3,90 0/00

Comme le montre le tableau ci-dessus et bien que mon dernier dosage ne concorde pas avec les précédents, il semble qu'il y ait plus de Calcium dans les peaux abdominales que dans les peaux dorsales. Je me refuse cependant à interpréter ces chiffres, non seulement à cause du peu de rigueur que les conditions dans lesquelles on est obligé de l'appliquer donnent à une méthode par ailleurs satisfaisante, mais encore parce que je les considère comme trop voisins de la teneur normale des peaux en Calcium et comme trop variables suivant les échantillons considérés.

III. Caractérisation microchimique

Tous les essais que j'ai faits ont été négatifs.

A l'imitation de nombreux auteurs et bien que je ne comprenne pas ce que signifie cette recherche par rapport au pigment purique ⁽¹⁾, j'ai essayé d'obtenir un dégagement de gaz au niveau des guanophores en traitant ceux-ci par un acide. Je n'ai jamais vu se produire, sous l'action de l'acide chlorhydrique, par exemple, les bulles signalées par certains de mes prédécesseurs.

J'ai calciné sur une lame de mica des fragments de tissus ou des coupes épaisses après avoir repéré l'emplacement des gua-

(1) En effet le carbonate de calcium est le seul sel de chaux pouvant donner un dégagement de gaz (CO²) sous l'action d'un acide. Il ne saurait être question de ce sel ici.

nophores. A l'examen des cendres restées en place, je n'ai jamais vu celui-ci occupé par un dépôt blanc, calcique.

J'ai traité à maintes reprises des préparations par des solutions d'acide oxalique de concentrations variables (1 à 10 0 0). Le pigment se dissolvait entièrement sans qu'il se formât aucun dépôt d'oxalate de chaux.

Les réactions utilisées en microchimie pour déceler le Calcium ne pouvaient m'être d'un grand secours, parce qu'elles sont presque toutes destinées à mettre en évidence le phosphate de chaux, et cela par l'intermédiaire du phosphore contenu dans ce dernier. La réaction argentique de Kossa était tout à fait inutilisable pour cette même raison et aussi parce que le nitrate d'argent précipite les corps puriques sous forme d'un composé noirâtre impossible à distinguer du phosphate d'argent qu'on cherche à obtenir par cette réaction.

La réaction de l'hématoxyline de Röhl (1) sur laquelle il était par contre légitime de compter s'est montrée complètement négative.

Ces résultats négatifs concordent avec les renseignements qu'avaient déjà fournis les dosages de Calcium pratiqués sur la poudre de cristaux. La guanine n'est pas contenue dans le pigment à l'état de combinaison calcique.

Dans ces conditions, et devant le fait déjà signalé que la combustion totale des cristaux laisse très peu de cendres, on pouvait se demander si le pigment purique n'était pas formé de guanate d'ammoniaque. J'ai donc recherché l'Ammonium en plaçant au fond d'un tube à essai 1/2 centimètre cube de poudre de cristaux auquel j'ai ajouté quelques gouttes de lessive de soude ; évaporant à feu nu, je n'ai constaté aucun dégagement gazeux d'odeur ammoniacale, tant que le tube contenait encore de l'eau. La réaction était donc négative. Mais en continuant à chauffer, jusqu'à destruction suffisante de la matière organique par la soude, j'ai obtenu un dégagement de vapeurs qui bleuissaient fortement le papier de tournesol et qui possédaient l'odeur caractéristique de l'ammoniaque. Cette réaction est normale avec un corps qui possède comme la guanine un noyau ammoniacal en puissance dans sa molécule.

(1) Voir pour la technique de cette réaction l'article de SCHULTZE (1910).

Conclusion

Je crois pouvoir conclure de l'ensemble de mes études chimiques :

1° En m'appuyant sur mes recherches qualitatives — que le pigment blanc contient de la guanine aussi bien chez les Reptiles et les Batraciens que chez les Poissons ;

2° En m'appuyant sur mes dosages de corps puriques (Poissons) — que cette guanine n'est pas libre mais existe sous forme d'une combinaison à laquelle elle participe pour 1/6 environ ;

3° En m'appuyant sur mes dosages de Calcium (Poissons) et sur mes recherches infructueuses de l'Ammonium — que le pigment est constitué par une combinaison organique de la guanine.

C'est pour avoir analysé des cristaux mêlés à des impuretés que certains de mes prédécesseurs ont pu admettre l'existence d'une combinaison calcique de guanine.

TROISIÈME PARTIE

PHYSIOLOGIE

GÉNÉRALITÉS SUR LA PHYSIOLOGIE DE LA PIGMENTATION

L'étude physiologique de la pigmentation a donné lieu à une expérimentation abondante et a été entreprise par de très nombreux auteurs ; mais la plupart d'entre eux n'ont guère posé la question que sous la forme où, sans doute, elle les avait frappés davantage : ils n'ont cherché à élucider que le mécanisme des changements de coloration et ont abondamment décrit les mouvements des chromatophores, par exemple sous l'influence de la lumière, d'excitations électriques, etc... de sorte que la physiologie du pigment proprement dite, c'est-à-dire le déterminisme de sa formation, est à l'heure actuelle une question fort mal

connue. Les auteurs qui l'ont abordée n'étaient malheureusement pas histologistes. Ils se sont contentés d'une étude macroscopique de leurs résultats expérimentaux qui ne permet pas à elle seule une interprétation exacte : c'est ainsi qu'ils ont pu prendre un état de contraction généralisée des chromatophores noirs, par exemple, pour une diminution de la mélanine. D'autres se sont laissé conduire par des hypothèses finalistes à de fausses interprétations des faits.

L'étude de la pigmentation ne va d'ailleurs pas sans difficultés. Chez les Vertébrés inférieurs, en particulier chez les Batraciens et chez les Poissons, qui constituent un matériel commode, les variations individuelles pigmentaires sont considérables, et pour affirmer un résultat, il faut l'avoir observé en même temps sur un nombre suffisant d'individus, ou bien il faut pouvoir comparer l'état du sujet avant et après l'expérience : l'un et l'autre prennent beaucoup de temps, nécessitent une installation spéciale et un grand nombre d'animaux. Aussi ai-je limité mes recherches aux espèces de Batraciens les plus communes dans la région parisienne : *Rana esculenta*, *Rana temporaria*, *Alytes obstetricans*, *Triton palmatus*, *Triton cristatus*.

Je diviserai cette étude physiologique du pigment purique en plusieurs chapitres. Après avoir sommairement passé en revue les causes des changements de coloration, j'étudierai successivement l'influence de la lumière et l'influence de l'alimentation sur le développement du pigment purique ; je dirai quelques mots de l'action des glandes à sécrétion interne et je terminerai par la critique des théories par lesquelles différents auteurs ont essayé d'expliquer la présence des guanophores dans les tissus.

CHAPITRE VII

CHANGEMENTS DE COLORATION

J'exposerai ici brièvement ce qu'on sait sur le mécanisme des changements de coloration chez les Vertébrés inférieurs. Dans

cette étude, je m'occuperai également des trois ordres de chromatophores, d'abord parce que le phénomène est seulement intelligible lorsqu'on considère la somme des variations propres à chaque catégorie de cellules pigmentaires ; ensuite, parce que ces variations sont soumises à un même mécanisme et dépendent des mêmes causes dans les trois cas. Les phénomènes sont se lement plus intenses, plus accusés pour les mélanophores, qui sont des cellules à la fois plus contractiles et plus sensibles.

La question des changements de coloration qui a de tout temps excité la curiosité des savants et des profanes est aujourd'hui bien connue. Aussi ne l'ai-je pas reprise personnellement et me suis-je contenté de vérifier incidemment, au cours d'une expérience, l'exactitude de telle ou telle assertion. Je me bornerai donc, après une rapide revue bibliographique, à résumer les résultats les mieux établis actuellement.

Connu depuis l'antiquité, mentionné par ARISTOTE et PLINÉ, le phénomène fut étudié scientifiquement pour la première fois par BRÜCKE (1832). Après lui, POUCHET fit de remarquables expériences sur les Poissons plats (1876). En 1893, BALLOWITZ put mettre en évidence l'innervation des mélanophores des Poissons : depuis, de nombreux auteurs, parmi lesquels il faut surtout citer BIEDERMANN, BABAK, VON FRISCH, MAST, FISCHER, MURISIER, ont isolé et étudié les principaux facteurs qui déterminent les changements de coloration.

Le phénomène est avant tout dû à la contractilité des cellules pigmentaires. Découverte par KÖLLIKER (1860), elle fut analysée de près par BIEDERMANN, VON FRISCH, BALLOWITZ. Ces auteurs pensent que l'état d'expansion du chromatophore représente un état de repos, la contraction étant seule active. Ils admettent que les prolongements protoplasmiques de la cellule sont permanents et fixes, le pigment étant seul capable de se déplacer et de modifier ainsi l'aspect du chromatophore. D'autres auteurs, au contraire, reconnaissent à ce dernier des propriétés amiboïdes (HALLER (1885), GOLOVINE (1907), HOLMES (1913)).

L'innervation des cellules pigmentaires a été établie physiologiquement par POUCHET (1876). En pratiquant des sections nerveuses chez des Poissons plats, il obtient une immobilisation en extension des chromatophores situés dans le territoire d'innervation du nerf sectionné. Ces expériences ont été plusieurs fois

confirmées depuis (BIMMERMANN (1878), CARNOT (1896)), BIMMERMANN avait en outre, ainsi que DUTARTRE (1890) le fit plus tard, excité électriquement un rameau nerveux et constaté une contraction générale des cellules pigmentaires dans la région innervée par celui-ci (1).

L'existence de nerfs pigmento-moteurs étant ainsi démontrée, il restait à établir comment ils se terminent au niveau des chromatophores et de quels centres ils dépendent.

POUCHET (1876), LODE (1890), KNAUTHE (1891) décrivirent des terminaisons nerveuses au niveau des chromatophores; en réalité, ils n'avaient coloré et vu que des prolongements protoplasmiques privés de leur pigment. SCHÖNDORFF (1903) et GOLOVINE (1907) employant le bleu de méthylène, ne trouvèrent pas de rapports anatomiques entre les nerfs et les cellules pigmentaires. Mais EBERTH (1893) et surtout BALLOWITZ (1893) mirent en évidence, autour des mélanophores de *Perca fluviatilis*, *Esox lucius*, *Alburnus lucidus*, etc., des réseaux fibrillaires terminaux dont certaines ramifications peuvent même traverser le corps cellulaire ou ses prolongements. Les figures de BALLOWITZ, obtenues par la méthode de Golgi, sont très démonstratives. SOLLAUD (1907) en a observé d'analogues chez la Grenouille.

On ne peut rien dire actuellement de précis sur l'existence et surtout sur la localisation d'un centre nerveux pigmentaire. L'expérimentation renseigne difficilement à ce point de vue, car toute destruction un peu étendue de substance nerveuse amène secondairement un changement d'état de tous les chromatophores de l'organisme. La plupart des auteurs qui ont cru découvrir des « centres toniques » pour les chromatophores et qui les ont localisés dans des régions très diverses (système sympathique, moëlle, bulbe, épiphyse, couches optiques, cerveau antérieur) ont interprété une action secondaire banale comme l'effet électif, précis, de la destruction du « centre pigmentaire » qu'ils supposaient avoir atteint. Peut-être pourrait-on reprendre ces expériences, en se guidant sur cette idée a priori que, étant donnée la grande influence des excitations

(1) Ces derniers résultats n'ont pas été admis par divers auteurs; entre autres: EHLMANN (1892) MARCHESINI (1909)

rétiniennes sur l'état des chromatophores, le centre qui régit celui-ci touche de près aux centres optiques.

Il reste à examiner maintenant les facteurs internes ou externes qui, soit directement, soit indirectement, influent sur la forme des cellules pigmentaires.

Les modifications locales de la circulation amènent des variations correspondantes de l'état des chromatophores. La ligature d'une artère entraîne une contraction générale de ceux-ci dans le territoire qu'elle irrigue. Je n'insiste pas sur ces actions circulatoires dont le rôle paraît peu important dans les conditions naturelles.

De nombreux facteurs externes ont été étudiés au point de vue de leur influence directe sur les chromatophores. Certains auteurs ont insisté sur l'action locale de diverses substances chimiques (essence de térébenthine, extrait de cantharides, iodure de potassium, etc.) ; d'autres sur les modifications qu'entraînent les contacts et les frottements. VOX SIEBOLD (1863) rapporte une anecdote assez curieuse d'après laquelle un poisson, fraîchement pêché et rapporté dans un filet, portait à l'arrivée, sur les flancs, le dessin des mailles contre lesquelles il avait été pressé. Des modifications dans l'état des chromatophores sous l'influence de la sécheresse, de la température et de la lumière sur la peau ont été décrites par HEBING (1869), BIEDERMANN (1892). Mais la difficulté d'isoler ces divers facteurs et de s'assurer que, dans les conditions de l'expérience leur action est seulement directe rend les résultats assez incertains.

Les causes naturelles qui provoquent la contraction ou l'expansion des chromatophores par voie indirecte, c'est-à-dire qui agissent par l'intermédiaire du système nerveux, sont avant tout les états psychiques et les excitations rétiniennes.

L'effet de la colère, de la frayeur sur la coloration des téguments est facile à observer chez le Caméléon, par exemple.

L'influence de la lumière sur les cellules pigmentaires par l'intermédiaire de l'œil est absolument certaine et bien connue, depuis des expériences déjà anciennes d'aveuglement, d'éclairement intensif ou de maintien à l'obscurité. Il résulte de différents travaux que lorsqu'on soumet un animal à un éclairage donné, il faut tenir compte non seulement de la quantité de lumière qu'il reçoit, mais de celle que le fond sur lequel il est

maintenu absorbe ou réfléchit. L'animal devient de plus en plus sombre à mesure que la lumière est plus vive (à l'obscurité totale correspond un état de contraction maxima des mélanophores, mais d'autre part il a toujours tendance à adapter sa coloration à celle du fond sur lequel il vit; ce phénomène peut être si marqué qu'il annule l'action de la lumière et que, comme l'a montré M. MCRISIER, une truite soumise à un éclairage intense, mais placée sur fond blanc, reste claire.

Un animal aveuglé devient sombre et le demeure quelles que soient les variations de la lumière et du fond. Il a donc perdu toute faculté d'adaptation chromatique.

CHAPITRE VIII

ACTION DE LA LUMIÈRE SUR LE DÉVELOPPEMENT DU PIGMENT PURIQUE

En exposant l'influence de la lumière sur les changements de coloration, je n'ai eu en vue que les actions passagères de courtes variations d'éclairement. Les modifications que j'ai décrites ne portent que sur l'aspect des chromatophores, non sur leur nombre ou leur répartition. Mais on peut obtenir, par une action constante et prolongée des rayons lumineux, des modifications durables de la pigmentation. J'étudierai spécialement ici celles qui ont trait aux guanophores.

Déjà la simple observation montre que la lumière joue un rôle dans la répartition des pigments, telle qu'elle est héréditairement fixée pour chaque espèce. D'une façon absolument générale, les régions cutanées les plus fréquemment soumises aux rayons solaires sont les plus riches en mélanophores. Mais le déterminisme de la pigmentation est trop complexe pour qu'on puisse se risquer à des interprétations plus précises de la topographie pigmentaire normale et je crois qu'il est beaucoup plus sûr de se fier à l'expérimentation.

CUNNINGHAM et MAC MUNN (1883) plaçant de jeunes larves de

Pleuronectes fraîchement écloses dans des vases de verre dont le fond seul est éclairé, observent qu'après un temps suffisant (se chiffrant par années), la face inférieure prend la couleur habituelle de la face supérieure et réciproquement. La même expérience, répétée sur des Pleuronectes âgés de plusieurs mois, fait disparaître progressivement chez ceux-ci la coloration blanc mat ventrale, qui est remplacée par une pigmentation jaune et noire. Au bout de deux ou trois ans, le ventre tend à prendre l'aspect d'un dos normal ; la région dorsale est beaucoup plus riche en guanophores que chez les animaux témoins. Le péritoine subit des transformations analogues : dans la région ventrale, le nombre des guanophores est diminué. Cette inversion expérimentale de la pigmentation est possible à tous les âges ; elle est d'autant plus rapide et plus complète que l'individu choisi est plus jeune. Elle demande cependant toujours plusieurs années. DUTARTRE (1890) a obtenu des modifications comparables de la coloration chez des grenouilles, en éclairant leur face inférieure.

M. MURISIER (1920) dans un travail très remarquable, où abondent les faits et les idées, sur le pigment mélanique de la Truite, signale que cet animal élevé sur fond blanc et à une vive lumière présente un grand développement du pigment purique à la face inférieure, sous forme d'une large bande brillante occupant le ventre et la partie basse des flancs. Chez les témoins (élevés sur fond noir) il n'existe qu'une étroite zone guaninique médio-ventrale.

J'ai entrepris des expériences analogues sur les larves de Batraciens et j'ai obtenu, chez des têtards élevés dès leur éclosion dans un vase de porcelaine blanche et à la lumière, une surabondance nette de guanophores à la face ventrale. Je ne crois pas cependant, malgré ce résultat positif, que les larves d'Anoures constituent un matériel de choix pour l'étude des transformations de la pigmentation sous l'influence de la lumière, car la métamorphose du sujet, qui vient interrompre l'expérience au bout de quelques semaines, ne laisse pas aux modifications le temps de s'établir suffisamment et de prendre une intensité tout à fait démonstrative.

J'ai soumis des Axolotls non adultes, à peu près complètement apigmentés (leur peau dorsale contenait quelques rares mélanophores lui donnant par places un aspect grisâtre, leur peau ventrale ne contenait aucun pigment, mais leur péritoine présentait quelques guanophores), à des conditions d'éclairement diverses, allant depuis l'obscurité totale jusqu'à la pleine lumière du jour, sur des fonds diversement colorés. J'ai prolongé les expériences environ quatre mois, mais je n'ai jamais pu enregistrer de modifications appréciables de la pigmentation chez ces animaux. Non seulement il n'est pas apparu de guanophores ou de mélanophores dans leur peau ventrale, mais le nombre des cellules noires contenues dans leur peau dorsale n'a pas sensiblement varié. Il y a chez ces animaux anormalement peu pigmentés, une sorte d'indifférence à l'action des facteurs externes (lumière par exemple), qui montre bien que la formation des pigments est avant tout causée par des facteurs internes, encore mal connus et qui peuvent héréditairement manquer.

La difficulté matérielle d'installer un dispositif convenable m'a empêché d'étudier l'action des diverses lumières monochromatiques sur le développement des guanophores. Les faits jusqu'à présent publiés ne concernent que les mélanophores. P. BERT (1875) rapporte que sur l'Axolotl la lumière bleue agit comme une lumière blanche intense, la lumière orangée comme l'obscurité. MANDOUL (1903) observe que les lumières rouge et verte (agissant sur la Grenouille) sont équivalentes à une lumière blanche faible, la lumière violette à une lumière blanche forte. « L'action excitante des vibrations lumineuses sur les chromoblastes croît », dit-il, « avec leur rapidité ».

A ces faits j'ajouterai simplement que, comme je l'ai observé sur des larves de *Rana temporaria*, non seulement les animaux élevés sur fond blanc présentent une augmentation de leurs guanophores, mais les animaux élevés sur fond jaune présentent une augmentation de leurs lipophores. Ces résultats concordent avec ceux qu'a obtenus KAMMERER (1913) à propos du pigment jaune de la Salamandre adulte et qui ont été contredits par HERBST (1919) dans ses observations sur des larves de Salamandre.

CHAPITRE IX

INFLUENCE DE L'ALIMENTATION SUR LE DÉVELOPPEMENT DU PIGMENT PURIQUE

Avant d'exposer mes recherches personnelles concernant l'influence de la quantité et de la qualité de la nourriture sur le développement du pigment purique, je voudrais dire un mot des raisons théoriques pour lesquelles je les ai entreprises.

A l'heure actuelle, il existe pour interpréter la présence de guanine dans les tissus deux théories qui établissent un rapport entre le régime alimentaire et la pigmentation :

d'après la première, le pigment purique est un excretum, l'élaboration de la guanine s'ajoute à l'élimination rénale ou la supplée.

d'après la seconde, le pigment blanc est, comme les autres pigments, une substance de réserve que l'animal accumule dans les conditions favorables pour l'utiliser lorsque sa nourriture devient insuffisante (Les auteurs qui ont défendu cette théorie ne savaient en général rien de précis sur la nature chimique du contenu des guanophores).

Il m'a semblé que l'expérimentation pouvait seule permettre, sinon de trancher la question de l'origine et de la destinée des substances pigmentaires, au moins de la poser en termes convenables ; aussi ai-je entrepris sur le rôle de l'alimentation une série d'expériences comparatives, dans lesquelles j'ai distingué un facteur quantitatif (influence du jeûne, de la suralimentation) et un facteur qualitatif (action des différents types d'aliments, en particulier des nucléo-protéides).

Influence de la quantité de nourriture.

Si plusieurs auteurs se sont occupés des variations quantitatives de la mélanine ou du lipochrome en fonction de la quantité de nourriture absorbée, il en est fort peu qui aient étudié la guanine à ce même point de vue.

Je ne peux guère citer que von WITTICH (1854) qui, en faisant

jeûner des grenouilles, voit augmenter leur pigment purique et RAO (1917) qui, expérimentant sur un têtard des Indes (*Microhyla ornata*), prétend au contraire faire disparaître les guano-phores de cet animal en le privant, quelques jours seulement, de nourriture. TORNIER (1908), qui part de l'idée *a priori* que les pigments représentent pour l'organisme des substances de réserve, fait jeûner des têtards de *Pelobates fuscus* et obtient des animaux apigmentés. Au contraire, POWERS (1880) et JOHNSON (1913), expérimentant, le premier sur *Amblystoma tigrinum*, le second sur *Hyla regilla*, constatent que les variations quantitatives de l'alimentation n'ont pas d'influence sur la pigmentation ; mais il semble douteux que ces auteurs aient connu l'existence des guano-phores.

Tous ces résultats sont à la fois contradictoires et imprécis, de sorte qu'il n'y en a guère que je puisse comparer à ceux que j'ai obtenus.

Pendant deux années consécutives, j'ai soumis des Batraciens adultes (*Rana temporaria*, *Triton cristatus* et *palmatus*) et larvaires têtards de *Rana esculenta* et *temporaria*, d'*Alytes obstetricans*) à des régimes très variés. J'ai eu soin de placer mes animaux dans les conditions les plus favorables, voisines autant que possible de l'état naturel et de soumettre les séries comparables à des influences identiques d'éclairage, de température, d'humidité, d'oxygénation, etc..., pour isoler autant que possible le facteur alimentaire. Les adultes, que j'avais choisis des deux sexes et d'âges variés, étaient logés dans des terraria peu éclairés où, à côté d'une zone terrestre garnie de mousse et de pierres pouvant servir d'abris, se trouvait un bassin à eau courante. Les têtards, provenant toujours, pour une même série d'expériences, de la même ponte, étaient répartis par groupes de 25 à 30 dans des cristallisoirs dont je renouvelais l'eau tous les deux jours. Il est évident que cette eau (eau de Seine) apportait aux animaux maintenus en état de jeûne quelques éléments utilisables. Mais l'arrêt de la croissance chez ces individus m'a fait considérer un pareil apport comme négligeable.

Pour chaque espèce, j'ai réparti mes animaux en trois lots : à l'un je fournissais une nourriture surabondante, à l'autre, une

quantité d'aliments nettement inférieure à des besoins normaux ; le troisième était soumis au jeûne absolu. Parmi les têtards en expérience, les uns furent mis deux jours après leur éclosion à l'un des régimes cités ci-dessus, les autres reçurent les quinze premiers jours une alimentation végétarienne normale et furent soumis ensuite aux conditions expérimentales. Ils les supportaient beaucoup mieux.

Je contrôlais les résultats en sacrifiant des animaux régulièrement et en examinant, après montage, leur peau au microscope. Pour les adultes, je prélevais un animal par quinzaine à partir du deuxième mois après le début de l'expérience. Pour les têtards, j'en sacrifiais un tous les trois jours à peu près, deux semaines après l'institution du régime spécial.

Je n'exposerai ici de mes observations que les faits concernant les guanophores et que j'ai déjà résumés dans une note à la Société de Biologie ⁽¹⁾.

Les résultats que j'ai obtenus sont nets et constants. Dans aucun cas, et même lorsque j'atteignais la limite de résistance de l'animal (pour les Tritons, je suis arrivé à une diminution de poids de plus des $2/3$), le jeûne n'a amené la disparition des guanophores annoncée par Rao et par Tornier. Il n'a même aucune action inhibitrice sur le développement du pigment purique, car, si dans la peau des têtards complètement privés de nourriture depuis quelques semaines on observe une raréfaction des cellules pigmentaires par rapport aux têtards normaux du même âge (de même par exemple qu'un moins grand nombre de glandes), c'est parce que chez les premiers, dont la croissance est à peu près nulle et qui restent inertes au fond de leur cristalliseur, le développement général du corps est entravé. L'aspect fripé, altéré (Planche IX, fig. 5), des guanophores dont les prolongements sont souvent rompus et les noyaux mal visibles, n'a rien d'electif, mais doit être considéré, au même titre que d'autres altérations cellulaires et que l'arrêt de la croissance, comme le signe d'une intense misère physiologique. Je remarquerai en passant que chez ces animaux dont la taille varie à peine de un à deux millimètres en plusieurs semaines, l'évolution des organes, à un certain retard près,

(1) *C. R. Soc. Biologie*, juin 1922.

suit malgré tout son cours habituel. Les pattes postérieures apparaissent. En général, on ne peut pas mener les animaux jusqu'à l'apparition des pattes antérieures et à la métamorphose complète, parce que cette période de grandes transformations correspond à une augmentation de leur fragilité et leur est à presque tous fatale. Tous les animaux qui atteignent ce stade furent ceux que j'avais nourris normalement pendant les quinze premiers jours de leur vie, avant de les soumettre au jeûne absolu. A la période ultime les altérations des tissus sont considérables. Les guanophores, le plus souvent contractés, ne sont pas disposés par groupes, comme chez le sujet normal d'âge égal, mais restent isolés les uns des autres. Cet aspect correspond à l'arrêt presque total de la division de ces éléments, qui n'est qu'un cas particulier du ralentissement de la multiplication cellulaire générale. De même les formes jeunes si abondantes et si faciles à voir à cet âge manquent complètement. Il faut rapporter ces deux faits à l'inhibition générale de la croissance chez ces animaux.

Chez le têtard insuffisamment nourri, les phénomènes sont analogues, mais moins accusés. Des guanophores nouveaux apparaissent, quoique avec lenteur, par multiplication et par différenciation. Les cellules adultes, le plus souvent contractées, ont une apparence poussiéreuse anormale, mais on n'y rencontre pas d'altérations proprement dites. Le têtard bien nourri présente seul ces chromatophores étoilés, brillants, très ramifiés, formant des groupes nombreux, où les attitudes de divisions sont fréquentes, et que je considère comme caractérisées d'un état parfaitement normal.

J'ai étudié sous un aspect un peu différent l'influence de la quantité de nourriture sur la condition des guanophores. Ayant remarqué que chez un têtard convenablement nourri qu'on ampute de la partie terminale de sa queue, le régénérat formé contient dans leurs rapports normaux les trois ordres de pigments, j'ai recherché si le jeûne amenait une modification quelconque dans l'apparition de ceux-ci, et en particulier de la guanine. J'ai donc, sur des sujets mis à jeûner depuis une semaine, sectionné la queue de façon à la raccourcir environ des deux tiers. L'opération est inoffensive sur des larves en bon état; elle entraîne au contraire une mortalité considérable

chez des animaux affaiblis par la privation de nourriture, et j'ai dû la pratiquer sur une grande échelle avant d'arriver à un nombre suffisant de survies. Au bout de quatre semaines environ, c'est-à-dire à un moment où chez des amputés bien nourris la queue avait repris sa longueur normale, j'ai sacrifié les amputés soumis au jeûne et j'ai examiné le fragment régénéré.

Ce fragment est beaucoup plus court que n'était le lambeau sectionné ; sa longueur est pour ainsi dire proportionnelle à la quantité d'aliments fournis aux sujets dont la nourriture a été réduite. Elle ne dépasse jamais quelques millimètres chez les individus soumis au jeûne absolu. Chez ceux-ci la pigmentation du régénérat est plus ou moins affaiblie et la diminution du nombre des chromatophores frappe également les trois ordres de pigments. Chez les têtards normaux amputés, la densité pigmentaire dans le régénérat est la même que dans le lambeau sectionné, à part quelques variations individuelles, parfois notables, concernant surtout les mélanophores et sur lesquelles je n'ai par conséquent pas à insister ici.

Action qualitative.

L'action de la composition chimique des aliments sur la pigmentation n'a jamais été étudiée. A part TORNIER (1908) qui observe chez le têtard de *Pelobates* une différence de coloration entre les sujets herbivores et les carnivores, aucun auteur ne paraît s'être préoccupé de cette intéressante question.

J'ai entrepris une série d'expériences destinées à étudier l'influence de diverses substances alimentaires sur le développement du pigment purique chez le têtard de *Rana temporaria*. J'ai donc élevé des séries comparatives de ces larves en donnant exclusivement à chacune d'elles un des aliments suivants :

- feuilles de choux ;
- épinards ;
- viande de bœuf ;
- blanc d'œuf cuit ;
- foie de bœuf ;
- thymus de veau.

Une série supplémentaire était soumise à un régime mixte composé de choux et de viande de bœuf ⁽¹⁾.

La teneur en « N purique » ⁽²⁾ des aliments que j'ai employés (exprimée en milligrammes par rapport à 100 grammes d'aliments) peut être évaluée approximativement à :

Thymus.	350 à 450 mmg.
Foie	100 mmg.
Viande	30 à 40 mmg.
Épinards	20 à 25 mmg.
Choux	néant ou traces.
Œuf	

Non seulement je me proposais de vérifier que le régime végétarien et le régime carné permettent d'obtenir des animaux très diversement colorés (TORNIER), mais j'espérais mettre en évidence un parallélisme entre la quantité de pigment purique élaborée par un animal et celle des nucléo-protéides qui lui sont fournies. La guanine étant un produit de décomposition de ces substances, si la pigmentation pouvait être modifiée par le régime alimentaire, un têtard nourri de foie et de thymus, organes très riches en nucléo-protéides, devait présenter un développement anormal de ses guanophores.

L'expérience n'a pas confirmé cette hypothèse.

Je n'ai pu relever aucune différence, au point de vue pigmentaire, entre les têtards des séries énumérées plus haut. À l'œil nu, leur coloration est identique ; sous le microscope, les préparations de peau sont indiscernables les unes des autres. La qualité des aliments, qui influe quelquefois sur la croissance (ainsi les animaux nourris à l'ovalbumine ne se développent pas très bien), n'agit donc pas sur la quantité absolue ou relative des trois ordres de pigments.

(1) M. CHAMPY a bien voulu me donner des têtards qui avaient été nourris avec du riz poli et du pain lavé. Malheureusement chez ces animaux, qui étaient conservés depuis quelque temps dans du formol ordinaire, le pigment purique avait été complètement détruit.

(2) La richesse en purines d'une substance alimentaire s'exprime d'ordinaire soit par la quantité d'acide urique produite par 100 grammes de la substance, soit par le poids d'azote correspondant à cette quantité d'acide urique ; j'emploie ce dernier mode d'expression qui est préféré par beaucoup d'auteurs. Il suffit de multiplier par 3 les chiffres du tableau ci-dessus pour avoir en milligrammes la quantité d'acide urique fournie par 100 grammes de l'aliment,

Ces résultats contredisent ceux qui ont été publiés jusqu'à présent et qui semblaient établir un rapport très général entre l'alimentation et la pigmentation. Ils obligent à se représenter les processus qui aboutissent à la formation du pigment purique d'une façon beaucoup plus complexe, et que les idées théoriques qui viennent les premières à l'esprit ne font pas prévoir. Tandis que j'aboutissais à un échec avec des expériences dont la réussite était vraisemblable, j'ai obtenu une modification fort nette de l'état des guanophores dans un cas où aucune idée *a priori* ne m'avait conduit à espérer un résultat positif.

JOHNSON (1913) avait constaté non seulement que la lécithine empêche *in vitro* l'action de la tyrosinase sur la tyrosine (cette action représente, on le sait, le processus le plus habituel de formation de la mélanine dans l'organisme des Vertébrés), mais qu'elle l'empêche aussi *in vivo*. En effet, il obtint chez deux lots de têtards nourris, les uns avec du jaune d'œuf, les autres avec des aliments quelconques auxquels il ajoutait de la lécithine, une diminution égale et considérable du pigment mélanique.

J'ai repris ces expériences pour préciser histologiquement le résultat obtenu par JOHNSON et pour étudier comment se comportaient les guanophores et les lipophores lors d'une réduction des mélanophores. J'ai donc nourri un certain nombre de têtards exclusivement avec du jaune d'œuf. Ils s'accommodent fort bien de ce régime, qui les conduit dans les délais ordinaires à une métamorphose tout à fait normale, au moins quant à l'aspect extérieur que les animaux présentent à ce moment.

Quinze jours après l'institution du régime, on n'observait pas encore de modifications macroscopiques de la coloration. Cependant la peau contenait déjà, à l'examen microscopique, un peu moins de mélanophores et un peu plus de guanophores que celle des témoins. Au bout de trois semaines ce phénomène devenu sensible à l'œil nu donnait au têtard un aspect grisâtre sale très caractéristique ; les téguments se révélaient alors très pauvres en mélanophores et d'une richesse extraordinaire en cellules à guanine. Celles-ci, non seulement plus nombreuses, mais de plus grande taille, plus remplies et pour ainsi dire plus exubérantes, envahissaient la peau dorsale, la queue... (Pl. IX, fig. 6 et Pl. XII, fig. 3 et 4).

Il m'est assez difficile actuellement d'interpréter ce phéno-

mène. Faut-il y voir une action directe de la lécithine sur la formation du pigment purique ? Rien dans nos connaissances chimiques actuelles ne permet de le penser. Mais peut-on admettre comme tout à fait certaine l'hypothèse de Johnson, d'une inhibition de la mélanogénèse et faire de l'augmentation du nombre des guanophores un phénomène compensateur du premier ? Les corps mélanogènes, arrêtés dans leur évolution naturelle et se trouvant sans emploi, peuvent-ils exceptionnellement se transformer en pigment purique ?

Autant de questions auxquelles on ne peut guère répondre pour le moment.

Quoi qu'il en soit, je tenais à signaler ce curieux balancement entre deux pigments qui n'ont aucune parenté chimique apparente et ce résultat positif de mes expériences alimentaires.

CHAPITRE X

ACTION DES GLANDES A SÉCRÉTION INTERNE

Bien qu'aucun travail n'ait été fait spécialement sur ce sujet, on sait depuis longtemps, par l'existence des parures de noces, que la période d'activité sexuelle peut coïncider avec des modifications de la pigmentation. La question n'est pas encore résolue de savoir si on doit rapporter celles-ci à l'action directe d'une sécrétion interne, ou s'il faut les faire dépendre des changements qui surviennent, au moment de la reproduction, dans le métabolisme de l'animal.

Je ne crois pas qu'on ait avantage à dissocier l'étude des parures de noces de celle des autres caractères sexuels secondaires. Je n'en parlerai donc pas ici, et d'autant moins qu'en général les guanophores n'y participent pas spécialement.

Les auteurs américains ont étudié l'action de deux glandes à sécrétion interne, l'hypophyse et l'épiphyse, sur la pigmentation.

SMITH (1916) et ALLEN (1917) publient que l'extirpation de

l'hypophyse chez les têtards amène des changements marqués de leur coloration. De sept à dix jours après l'opération, les animaux passent d'un aspect noirâtre à une couleur argentée. SMITH attribue le phénomène à une diminution du nombre des mélanophores et de leur teneur en mélanine, et à une augmentation du nombre des guanophores. ALLEN croit au contraire à la contraction et à la migration vers la profondeur des cellules noires et à l'expansion des cellules à guanine.

ATWELL (1919), après avoir pratiqué l'hypophysectomie et après avoir constaté les mêmes résultats que ses prédécesseurs, rend aux têtards opérés leur couleur normale en les nourrissant avec de l'hypophyse de Bœuf. L'effet est obtenu une demi-heure après l'ingestion de celle-ci, mais ne se maintient que si l'alimentation hypophysaire est continuée. Un résultat aussi rapide ne peut être dû qu'à l'expansion des cellules existantes et c'est bien ce que l'examen microscopique permet à l'auteur de vérifier. SWINGLE (1921) greffe des fragments d'hypophyse de Grenouille dans la cavité péritonéale d'un têtard. Une heure après l'opération, l'animal prend une coloration très foncée qui se maintient tant que le greffon n'est pas résorbé, c'est-à-dire pendant un mois environ. L'examen microscopique révèle un état permanent d'expansion des mélanophores qui atteint même les mélanophores viscéraux et qu'aucune condition d'éclairage ne peut modifier.

MAC CORD (1917) et ALLEN, faisant absorber à des têtards de l'épiphyse de Mammifères, constatent des modifications pigmentaires analogues à celles que produit l'hypophysectomie.

Il résulte donc de ce qui précède que pour les auteurs américains l'hypophyse (principalement la *pars intermedia* et l'épiphyse, qui agissent sur la coloration du têtard, fonctionnent à ce point de vue comme deux glandes antagonistes.

Je n'ai pu reproduire les expériences d'hypophysectomie et de greffe à cause de la petite taille des têtards français, qui rend l'opération beaucoup plus difficile que sur les têtards américains (*Rana catesbeiana*, *Rana pipiens*). Mais j'ai étudié, sur des têtards de *Rana temporaria*, l'action de l'ingestion d'extraits glandulaires non seulement d'épiphyse ou d'hypophyse, mais de corps surrénal, de testicule et de glande thyroïde. Dans

aucun cas je n'ai pu obtenir de modifications de la coloration.

Je ne sais comment interpréter cette contradiction entre les expériences de Atwell, Mac GORD, ALLEN et les miennes car, d'une part j'ai pu constater que les animaux absorbaient véritablement la poudre de glande, préparée par la maison Choay avec toutes les garanties désirables, d'autre part, j'ai obtenu chez les têtards soumis à l'action de la thyroïde cette accélération de la croissance et cette précocité des phénomènes de métamorphose qui sont tout à fait caractéristiques de l'efficacité du traitement. Il me paraît impossible que la non concordance de nos résultats tienne à ce que les auteurs américains ont expérimenté sur des espèces différentes de *Rana temporaria*. L'extrême généralité de l'action des glandes à sécrétion interne, le fait que le têtard est aussi sensible à l'hypophyse de Grenouille qu'à l'hypophyse de Bœuf me paraissent devoir écarter cette hypothèse.

En même temps qu'à des têtards, j'ai fait ingérer des extraits glandulaires à des Axolotls — presque apigmentés — que je possédais. Ici encore, je n'ai observé aucune modification de la coloration, mais j'ai vu se métamorphoser assez rapidement en Amblystome le sujet auquel j'avais donné de la thyroïde.

Je compte reprendre ces expériences la saison venue et les compléter en les étendant aux adultes, auxquels j'administrerai les extraits soit par ingestion, soit par injection.

CHAPITRE XI

EXAMEN CRITIQUE DES THÉORIES QUI ONT CHERCHÉ À INTERPRÉTER LA FORMATION DU PIGMENT PURIQUE

Parmi les auteurs qui ont cherché à dégager de données physiologiques, zoologiques ou histologiques la signification du pigment purique, on peut distinguer deux tendances. La première consiste à chercher quelle place il occupe dans le

métabolisme général de l'animal. La seconde, faisant abstraction des propriétés chimiques du pigment, cherche, d'un point de vue finaliste, l'utilité que ne peut manquer d'avoir pour la défense de l'individu, une substance aussi abondante et aussi visible.

Parmi les théories finalistes, je retiendrai celles qui, s'appliquant surtout à l'argenteure des Poissons, font de celle-ci, soit un écran contre les rayons lumineux, soit un instrument de protection contre les animaux prédateurs.

Comme j'ai eu l'occasion de le dire ailleurs ⁽¹⁾ c'est M. MURISIER (1920) qui a défendu de la façon la plus intéressante l'hypothèse du rôle protecteur de la guanine contre la lumière. Cet auteur ayant, dans une expérience que j'ai citée plus haut, élevé des Truites (*Salmo lacustris*) à une lumière vive, les unes sur fond blanc, les autres sur fond noir, a constaté que les premières présentent un très vif éclat argenté du ventre et des flancs, alors que les autres ont une couleur sombre et une argenteure à peu près nulle. Il propose d'interpréter le phénomène comme un mécanisme de défense par lequel la Truite, soumise à l'action d'un fond éclairant substituerait à un écran mélanique absorbant, un écran à guanine réfléchissant. « Elle s'assure », dit-il, « du même coup, par cette réaction admirablement orientée, l'homochromie protectrice et une défense plus efficace contre l'action des rayons lumineux ».

Cette homochromie protectrice qu'indique M. MURISIER avait déjà souvent été invoquée avant lui. POPOFF (1906), LALOY (1907), KAPELKIN (1907), FRANZ (1907) ont vu dans l'argenteure un moyen pour les Poissons qui habitent les eaux superficielles d'échapper aux espèces carnassières qui les poursuivent : grâce à l'éclat dont ils brillent, ils peuvent se confondre avec la surface de l'eau qui paraît argentée vue de la profondeur.

A la théorie qui fait de la guanine un écran contre la lumière on peut objecter tout de suite que la région dorsale des Poissons qui reçoit le plus de lumière est aussi celle qui aurait besoin d'être la mieux protégée. Or, ce sont toujours les écailles ventrales qui contiennent le plus de guanophores, les écailles dorsales en étant même souvent dépourvues.

(1) *Bulletin Société de Zoologie*, juin 1922.

Le rôle protecteur de l'argenture vis-à-vis des prédateurs est lui aussi sujet à critique. Il est douteux que la surface de l'eau, vue de la profondeur, apparaisse brillante — que les poissons carnassiers nagent toujours au dessous de leurs proies — et que la poursuite ait lieu aux heures où la lumière est la plus forte et où par conséquent l'argenture serait la plus utile. Il suffit d'avoir pratiqué la pêche dite « à la cuiller » pour savoir qu'un des procédés les plus efficaces pour attirer un Poisson carnassier consiste à traîner dans l'eau un objet brillant, en métal ou en nacre, que l'animal prend évidemment pour le ventre argenté d'une proie. Loin de protéger celui qui en est revêtu, l'argenture semble donc plutôt attirer sur lui l'attention de son ennemi. Enfin le meilleur moyen de montrer la fragilité de cette hypothèse est peut-être d'opposer aux interprétations utilitaires précédentes celle que suggère M. Rao (1917), à propos des têtards de *Microhyla ornata* : la bande dorsale brillante, guaninique, que présentent ces animaux servirait non plus à les empêcher d'être vus par leurs ennemis, Couleuvres et Oiseaux, mais au contraire à les faire reconnaître par ceux-ci, entre toutes les autres larves, comme une espèce non comestible que des glandes nauséabondes rendent désagréable au goût.

Le plus grave défaut des explications de cet ordre, c'est qu'elles ne s'appliquent qu'à certains cas particuliers. Les auteurs qui ont interprété l'argenture des Poissons oublient que la prédominance ventrale des guanophores est générale chez les Vertébrés inférieurs, et que des considérations de défense contre la lumière ou contre des ennemis ne sauraient jouer à propos d'Anoures ou d'Ophidiens, animaux terrestres, dont la face ventrale est fort peu visible et peu éclairée. A mon avis, il est plus important d'expliquer la présence constante de la guanine en certaines régions, que de chercher un sens à l'aspect brillant qu'elle leur donne dans certains cas. C'est une attitude d'esprit très anthropomorphique que de poser en principe que ce qui se voit est fait pour être vu. Il ne faut pas oublier que les pigments, qui sont si apparents à la surface du corps, se rencontrent aussi, et parfois en grande abondance, dans des régions inaccessibles à la vue et sans doute à la lumière, telle que la vessie natatoire, la cavité générale, où les guanophores forment souvent une véritable argenture interne.

Parmi les auteurs qui ne se sont pas laissé tenter par des idées finalistes et qui ont essayé d'interpréter les différents pigments en fonction du métabolisme général, il faut d'abord citer RÉAUMUR (1716). Il remarque que les cristaux des écailles de Poissons se rencontrent aussi « dans la membrane qui entoure l'estomac et l'intestin » et émet l'hypothèse que la substance qui les forme est d'origine digestive et se rend par l'intermédiaire des vaisseaux dans la peau et dans les écailles. Cette idée fondée sur une observation trop superficielle, mais qu'il était impossible de préciser à l'époque, est contredite par le fait que les guanophores apparaissent dans la peau avant d'apparaître dans le péritoine, et qu'on ne rencontre jamais de cellules à guanine dans les vaisseaux.

Je ne reviendrai pas ici sur la théorie qui fait des pigments des substances de réserve pour l'organisme, l'ayant longuement discutée à propos de l'influence de l'alimentation sur la pigmentation.

Par contre, je voudrais insister sur une théorie intéressante dont MANDOUX a été le principal défenseur et qui fait de la présence de la guanine dans les téguments la conséquence d'une insuffisance de l'appareil excréteur. Pour cet auteur, l'absence de pigment purique chez les Vertébrés supérieurs opposée à sa grande abondance chez les Poissons, les Reptiles et les Batraciens, tient au perfectionnement croissant de l'appareil rénal, à mesure qu'on s'élève dans la série animale : « Les déchets imparfaitement éliminés chez les Vertébrés inférieurs s'accumulent dans l'organisme et vont se fixer dans les téguments notamment où ils sont utilisés secondairement dans la coloration. La peau supplée le rein insuffisant ».

Donc d'après MANDOUX et les auteurs qui ont adopté sa manière de voir, la guanine qui se fixe dans les téguments des Vertébrés inférieurs représenterait un produit de désassimilation que le rein est incapable d'éliminer.

Les expériences que j'ai rapportées plus haut et d'après lesquelles les régimes alimentaires n'ont pas d'influence sur la production du pigment purique m'avaient déjà mis en défiance contre cette explication. L'insuffisance habituelle du rein aurait dû être augmentée et la suppléance des guanophores se

manifeste bien davantage chez des animaux nourris avec du foie et du thymus, aliments riches en nucléo-protéides ⁽¹⁾, mais l'examen des téguments ne montrait rien de semblable.

Or non seulement les nucléines naturelles n'agissent pas sur la pigmentation, mais l'acide nucléique, chimiquement préparé ⁽²⁾ paraît sans influence sur celle-ci. En effet, j'en ai fait absorber pendant plus de deux mois à des têtards, et à des adultes de *Rana temporaria*, pendant une période de six mois, j'ai fait chaque quinzaine, une injection sous-cutanée de 1 décigramme d'acide nucléique en solution aqueuse. L'opération est bien supportée lorsqu'on prend les précautions nécessaires et qu'on a soin de nourrir les animaux par gavage de façon à éviter leur amaigrissement.

Si le résultat de ces expériences avait été positif, il aurait été intéressant à un double point de vue : il aurait donné des indications très précises sur l'origine chimique du pigment purique, il aurait confirmé physiologiquement cette hypothèse que la désintégration naturelle des acides nucléiques de l'organisme produit des bases puriques, hypothèse qui ne repose jusqu'à présent que sur des études chimiques faites *in vitro*. Le fait que la guanine est contenue chez les Vertébrés inférieurs dans des cellules spéciales et fort visibles faisait de ceux-ci un matériel de choix et aurait donné aux observations une précision toute particulière : non seulement les résultats auraient été lisibles à première vue, mais les variations de nombre des guanophores auraient permis de mesurer le phénomène. Malheureusement, dans aucun cas je n'ai obtenu de coloration anormale des téguments ou de modifications quelconques du pigment purique. L'examen microscopique ne m'a révélé aucune augmentation du nombre des formes jeunes ou des formes de division des guanophores.

En s'appuyant sur les expériences précédentes, on peut d'une part confirmer la notion établie plus haut que la formation

(1) Chez un homme normal, une ration alimentaire riche en corps producteurs de purines augmente considérablement l'excrétion d'acide urique. Elle s'élève, par exemple, de 2 gr. 50, en 24 heures, à la suite de l'ingestion d'une quantité notable de thymus (WEINTRAUD). Chez les gouteux, on sait avec quelle facilité les écarts de régime déterminent des crises, et le dépôt d'acide urique et d'urates dans les tissus. Il était intéressant de le rappeler ici.

(2) Je tiens à remercier ici M. Doyon à l'obligeance duquel je dois ce produit.

du pigment purique est indépendante du régime alimentaire, d'autre part détruire la théorie qui voit dans la présence des guanophores un témoignage d'une insuffisance rénale. Si j'insiste sur ces résultats, c'est que chez les Invertébrés il existe une relation très nette, mise en évidence par FAUSSEK (1909) pour les Araignées, par KRAHELSKA (1910) et surtout TURCHINI (1923) pour les Mollusques, entre la quantité d'aliments fournis et l'abondance des concrétions puriques, si bien que l'ensemble des cellules contenant ces dernières a pu être décrit comme une sorte de « rein d'accumulation ». La différence est donc fondamentale, au moins en ce qui concerne les espèces d'Invertébrés étudiées jusqu'ici ⁽¹⁾.

J'ai institué une expérience complémentaire en faisant absorber à différentes séries de têtards des diurétiques employés en thérapeutique, comme la théobromine par exemple, pour voir si une activation du fonctionnement rénal entraînait une diminution du nombre des guanophores. Le résultat a été absolument négatif.

Je sais bien qu'on peut discuter l'identité de l'action produite par une substance chimique chez un Mammifère et chez un Batracien. Mais comme, en faisant agir sur le têtard certains produits qui chez l'homme dissolvent les tophus d'urate de soude que l'on observe dans certaines manifestations de l'arthritisme et particulièrement dans la goutte, j'ai obtenu une altération élective des guanophores et un ralentissement de leur formation, je crois qu'il n'était pas absurde de tenter cette épreuve.

Les substances utilisées en thérapeutique pour dissoudre les concrétions uriques et que j'ai fait absorber à des têtards sont la pipérazine et l'Atophan ($C^{16}H^{11}NO^2$). Après de nombreux essais, j'ai dû abandonner la première par suite de son extrême toxicité pour les larves, chez qui elle déterminait un œdème considérable. Après avoir flotté quelques heures, le ventre en l'air, elles mouraient. L'Atophan au contraire, que j'ai employé à doses relativement fortes, était très bien supporté par des animaux qui non seulement vivaient dans une solution de ce

(1) Je dois signaler cependant que VERNE faisant jeûner des Crustacés ne note aucune modification de leurs pigments.

produit, mais en avalaient visiblement des particules. Au bout de quelques semaines de ce traitement, combiné avec une alimentation normale, les têtards en parfait état que je sacrifiais, présentaient un aspect poussiéreux, irrégulier, quelquefois même déchiqueté, des cellules à guanine, caractéristique de l'état de souffrance de celles-ci.

Ce résultat a, en outre, l'intérêt de pouvoir servir à élucider une question de thérapeutique encore obscure. En effet, certains médecins se sont demandé si l'Atophan était bien capable d'exercer *in vivo* sur les concrétions uriques la même action dissolvante qu'*in vitro*. Les expériences que j'ai faites montrent que non seulement l'Atophan dissout également bien *in vitro* la guanine et l'acide urique, mais qu'il agit *in vivo* sur le contenu des guanophores du têtard. Il me paraît y avoir là une présomption en faveur d'une action dissolvante réelle du médicament sur les concrétions uriques des gouteux.

CHAPITRE XII

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LE PIGMENT PURIQUE

Arrivé au terme de ce travail, et avant de conclure, je crois intéressant de dégager des faits nouveaux qu'il a tenté de mettre en lumière quelques idées générales concernant la signification du pigment purique et ses rapports avec les autres pigments.

On peut, à mon avis, considérer le guanophore comme un véritable chromatophore, comparable à un mélanophore, par exemple, et capable comme lui d'élaborer par son activité propre et d'accumuler dans son protoplasma une substance d'aspect physique et de nature chimique bien définis, qui joue un rôle dans la coloration de l'animal, mais dont la signification doit être cherchée avant tout par rapport au métabolisme général de celui-ci. La cellule à guanine, la cellule à mélanine et sans doute aussi la cellule à lipochrome sont des éléments homo-

logues, à caractères morphologiques et physiologiques tout à fait comparables.

Je n'insiste pas sur les propriétés banales communes à tous les chromatophores et dont la plus visible est la contractilité : bien que les mélanophores soient plus sensibles et plus actifs que les guanophores, ceux-ci sont cependant capables de réagir par des changements de forme aux excitations chimiques, thermiques, lumineuses, etc. C'est surtout sur l'identité de leur origine et de leur mode de division que je fonde une homologie entre les guanophores et les mélanophores.

Ces deux ordres de cellules ont avant tout une origine conjonctive. Un très jeune élément ramifié se charge de granules pigmentaires qui ne diffèrent que par la taille de ceux de l'élément adulte. La nature cristalline des enclaves du guanophore fait que celles-ci apparaissent brusquement et qu'elles sont d'emblée assez abondantes en tous les points du protoplasma, alors que les grains de mélanine se forment pour ainsi dire un à un et souvent à la pointe d'un prolongement. Les cellules à guanine ont, comme les mélanophores, une origine leucocytaire accessoire.

La division d'un chromatophore quel qu'il soit diffère d'une mitose ordinaire par les caractères suivants : la cellule rétracte partiellement ses prolongements, rejette son pigment à la périphérie, l'aster, le fuseau ne sont jamais très visibles ; à part ces faits, la caryodièrese est en somme banale. La plasmodiérèse est au contraire souvent atypique. Dans de nombreux cas elle s'ébauche seulement, les deux cellules filles restent unies par un large pont protoplasmique ; dans d'autres, elle se produit avec un grand retard ou ne se produit pas. Il s'en suit l'apparition de formes bi ou multi-nucléées, qu'on rencontre pour tous les chromatophores, non seulement chez les Vertébrés mais aussi chez les Invertébrés (Crustacés).

La sensibilité à la lumière est une propriété commune à toutes les cellules pigmentaires des Vertébrés inférieurs, et dont les manifestations ont été bien étudiées. Mais peut être a-t-on jusqu'à présent trop confondu deux effets de l'énergie lumineuse, qui est capable, selon les conditions dans lesquelles elle agit, d'une part de modifier l'état de contraction ou d'expansion des cellules, d'autre part d'amener au bout d'un certain temps

d'action une variation de leur nombre dans le territoire éclairé. Lorsque l'intensité de la lumière augmente, le guanophore se contracte, le mélanophore entre en expansion : l'effet est inverse lorsque l'intensité diminue. Il faut distinguer de ces résultats presque immédiats ceux qu'on obtient en faisant agir de façon durable, et de préférence sur un sujet jeune, soit une forte lumière, soit l'obscurité. En outre des modifications portant sur l'état des chromatophores et qui se produisent dans le sens signalé précédemment, on constate, selon l'intensité lumineuse employée et selon la catégorie de chromatophores considérés, une apparition de cellules nouvelles ou une disparition de cellules existantes. Pour un éclairage intense le nombre des mélanophores et des lipophores augmente, celui des guanophores diminue. L'inverse se produit lorsque la lumière est presque nulle. Cette action de la lumière s'explique avant tout et sans faire intervenir de données finalistes (protection, etc.) par ce fait que le chromatophore utilise l'énergie lumineuse pour l'élaboration de son pigment. A chacun des processus chimiques qui aboutissent à la formation des trois pigments paraît bien correspondre une intensité optima pour laquelle la substance favorisée se développe à peu près seule. Lorsqu'un éclairage active la production du pigment blanc ou du pigment noir, il inhibe presque toujours celle de l'autre pigment ; la diminution de l'un correspond à l'augmentation de l'autre : il se produit entre eux une sorte de balancement.

Ce balancement ne s'observe pas seulement lorsqu'on fait agir la lumière sur les cellules pigmentaires. On le rencontre encore, comme l'ont montré les auteurs américains, lorsqu'on fait agir sur des têtards des extraits d'hypophyse ou d'épiphyse, enfin, comme l'ont prouvé mes expériences, lorsqu'on nourrit des têtards avec de la lécithine. Quel que soit le facteur considéré, à une action activante sur la guanine s'oppose une action inhibitrice sur la mélanine et réciproquement : tout se passe comme si une substance unique se trouvait à l'origine des divers pigments et était orientée suivant des influences internes ou externes vers la formation de guanine, de mélanine ou de lipochrome. Le balancement traduirait alors l'impossibilité où serait l'organisme de fournir des matériaux en même temps

à une production exagérée de mélanine par exemple et au maintien des autres pigments.

Cette hypothèse qui ne repose jusqu'à présent sur aucune donnée chimique, m'a été directement suggérée par des résultats expérimentaux. Outre ceux-ci, elle me semble pouvoir expliquer très simplement les cas classiques d'apigmentation, où les trois ordres de pigments sont généralement affaiblis et l'existence des parures de noces où les pigments sont généralement exaltés, par une modification anormale ou temporaire de la quantité de pigmentogène présente dans l'organisme. Il me paraît difficile d'attribuer les modifications parallèles des trois pigments dans l'un ou l'autre cas à l'action concordante d'un même facteur, tel que, par exemple, le produit d'une sécrétion interne, sur les processus formateurs de mélanine, de guanine ou de lipochrome. Dans toutes les expériences précédemment citées, nous avons vu, au contraire, que chaque pigment réagit différemment, et pour ainsi dire selon sa sensibilité propre, à l'excitant employé.

Je regrette que KAMMERER, qui a fait de très intéressantes études sur le Protée, et qui en particulier a vu apparaître dans la peau de celui-ci des mélanophores après une exposition suffisante à la lumière, ne signale pas ce qui se passe au point de vue des guanophores. Devant l'impossibilité de me procurer le matériel nécessaire, j'ai dû renoncer à reprendre et à compléter cette expérience.

Si les données que l'on possède actuellement sur la nature chimique et l'origine des diverses substances pigmentaires ne permettent pas de préciser la notion de pigmentogène, ou d'indiquer la composition approximative de celui-ci, elles peuvent par contre servir, dans un tout autre ordre d'idées, à établir la place qu'occupent la mélanine, la guanine et le lipochrome dans le métabolisme général. A mon avis et bien que l'on ait jusqu'à présent surtout insisté sur les différences qui les séparent, les trois pigments ont à peu près la même valeur physiologique et appartiennent à la catégorie des matériaux de déchet. Les cellules pigmentaires contiennent des substances de nature excrémentitielle fixées sans doute définitivement sous forme d'enclaves différenciées et qui paraissent se

tenir en marge du métabolisme de l'animal. On peut se demander quel rôle joue la nature chimique du contenu des chromatophores dans l'extrême résistance des cellules pigmentaires à divers facteurs expérimentaux. Le fait qu'un produit est rejeté au dehors tient peut-être moins à ses propriétés chimiques qu'à la nature de la cellule qui l'a élaboré et le renferme. La mélanine lorsqu'elle est contenue dans cet élément fixateur qu'est un chromatophore, y demeure. Elle est au contraire régulièrement expulsée avec le mucus hors des cellules glandulaires de la poche du noir des Céphalopodes (TURCHINI, 1922). En ce qui concerne le cas particulier de la guanine, on peut opposer aux guanophores des Vertébrés inférieurs, insensibles au jeûne, à la suralimentation, les concrétions puriques intra ou extra-cellulaires que FÄRSEK a décrites chez les Araignées, dont l'importance varie selon le régime auquel on soumet l'animal. Cette différence ne saurait tenir au fait qu'il s'agit dans un cas de Vertébrés, sans l'autre d'Invertébrés, puisque chez certains Crustacés, les chromatophores se sont montrés, au moins dans un cas (VERNE) tout à fait insensibles au jeûne. Je serais donc assez disposé à admettre que les substances pigmentaires, une fois fixées dans les chromatophores sont en dehors du métabolisme. Bien entendu cette hypothèse appelle de nouveaux faits.

Je considère la nature excrémentitielle des trois pigments, jaune, noir et blanc, comme absolument certaine. On admet maintenant d'une façon très générale que la mélanine résulte d'une transformation des produits de désintégration des matières protéiques. Par contre l'idée de considérer le pigment jaune comme une substance de déchet est tout à fait nouvelle et opposée à l'opinion généralement admise qui fait d'une substance présentant des réactions microchimiques voisines de celles des graisses un matériel de réserve. J'espère l'avoir établi dans une communication récente au XVIII^e Congrès des Anatomistes de langue française, à laquelle je renvoie pour plus de détails. Je pense avoir suffisamment insisté au cours de ce travail sur la nature excrémentitielle du pigment purique et je rappelle à nouveau ici l'indépendance qui existe entre la présence de ce pigment d'une part, l'activité ou l'intégrité du fonctionnement rénal, la nature de l'alimentation d'autre part, et qui

pourrait se résumer dans cette formule que les Vertébrés inférieurs ne sont ni des « goutteux » ni des « insuffisants rénaux ».

La distinction que FOLIN a proposé de faire parmi les substances de déchet, entre les produits exogènes, variables avec le régime (urée chez les Mammifères, et les produits endogènes (créatinine chez les Mammifères) indépendants de l'alimentation, est intéressante à rappeler ici. Si l'on admet cette manière de voir, la guanine pigmentaire appartient évidemment au métabolisme endogène des animaux. Il en est de même des autres pigments.

Aucune de ces substances ne représente d'ailleurs un témoin fidèle du métabolisme même endogène. Celui-ci peut être profondément bouleversé par la maladie, l'inanition prolongée sans que la coloration soit modifiée; inversement, on observe des troubles profonds de la pigmentation (albinisme, mélanisme) chez des sujets dont l'état physiologique est d'autre part parfaitement normal.

Telles sont les idées générales par lesquelles il m'a semblé intéressant de terminer ce travail, non seulement pour marquer qu'il laisse encore bien des problèmes non résolus, mais pour essayer de placer la question du pigment purique sur son vrai terrain et à l'abri des erreurs qui avaient jusqu'à présent retardé sa solution.

Après avoir adopté comme hypothèse de travail l'idée d'une relation directe entre le pigment purique élaboré par un animal et les nucléo-protéides qui lui sont fournis, je suis obligé de conclure à une indépendance complète entre la nature des aliments ingérés et l'abondance de la guanine qui se fixe dans les téguments. Un résultat inverse, qui eût vérifié une théorie séduisante, eût été plus satisfaisant pour l'esprit et eût jeté une vive lumière sur le mécanisme de la pigmentation purique. Mais il ne faut jamais regretter une hypothèse si belle soit-elle lorsque les faits la contredisent.

RÉSUMÉ ET CONCLUSION

Le pigment purique se présente chez les Vertébrés inférieurs sous un aspect remarquablement constant. Toujours formé de cristaux, il est contenu dans des cellules différenciées ayant la

valeur de véritables chromatophores. Ces éléments, ou guanophores, sont localisés dans différents tissus (derme, péritoine, iris...) et leur répartition à la surface du corps ou dans les régions profondes de celui-ci paraît soumise à des lois générales qui s'appliquent aux groupes zoologiques les plus éloignés par leurs caractères anatomiques et leur genre de vie. C'est ainsi que les guanophores sont, de façon constante, plus abondants à la face ventrale qu'à la face dorsale de l'animal.

Les cristaux du guanophore sont répartis dans toute la masse de son protoplasma ; par suite de leurs faibles dimensions ils ne peuvent être rattachés à aucun système défini. Ils constituent les seules enclaves de la cellule. Le noyau de celle-ci ne présente pas de caractères suffisants pour faire reconnaître comme tel un guanophore lorsqu'on l'a dépigmenté. Comme les autres chromatophores, le guanophore est souvent bi ou plurinucléé.

Le guanophore reconnaît plusieurs origines : il provient de la transformation d'une cellule conjonctive fixe dans laquelle la guanine apparaît par brusque cristallisation en tous les points du protoplasma. Les cristaux ne sont pas d'origine mitochondriale. Il reconnaît quelquefois aussi pour origine un leucocyte de provenance encore indéterminée, qui vient se fixer dans les téguments. Enfin et surtout il naît par division directe et indirecte de guanophores préexistants. La plasmodiérèse ne suit pas toujours immédiatement la cytodièrese ; souvent même elle ne se produit pas.

Les premiers guanophores qu'on observe chez l'embryon apparaissent toujours dans l'organe visuel, quelle que soit l'espèce considérée. Cette apparition est contemporaine de l'éclosion chez les Batraciens, plus précoce chez les Poissons. Ultérieurement les guanophores se différencient suivant une direction qui est toujours cranio-caudale, moins constamment dorso-ventrale.

L'étude chimique du pigment montre qu'il est bien formé de guanine, ainsi que l'avait vu BARRESWILL. Contrairement à l'opinion généralement admise, cette substance n'est pas contenue dans les cristaux à l'état de guanate de chaux, mais sous forme d'une combinaison organique dont mes recherches permettent d'affirmer l'existence bien qu'elles n'aient pu aboutir à en définir la nature exacte.

Comme les autres chromatophores, le guanophore présente des apparences de contraction et d'expansion. Ces phénomènes doivent s'interpréter comme un déplacement du pigment à l'intérieur de la cellule dont la forme reste invariable, ainsi que le montre la coloration du protoplasma sur des éléments contractés. Ces déplacements intra-cellulaires, qui se produisent au moins en partie sous l'influence du système nerveux, et qui sont en général de même sens pour tous les guanophores d'un même territoire, jouent un rôle important dans les changements de coloration des animaux.

Les processus formateurs de la guanine se révèlent expérimentalement sensibles à deux ordres de facteurs : d'une part, la lumière, suivant son intensité, favorise ou inhibe le développement des guanophores et la formation de la guanine (dans cette action complexe il faut distinguer de l'action de l'énergie lumineuse proprement dite celle de la couleur du fond sur lequel on élève l'animal) ; d'autre part, les glandes à sécrétions internes tiennent sous leur dépendance la formation du pigment purique : d'après les travaux de l'école américaine, l'action de l'hypophyse serait inhibitrice, celle de l'épiphyse activante. Mes expériences ne me permettent pas de confirmer ou d'infirmer cette manière de voir. L'action de la glande sexuelle qui est évidente (parures de noées) est encore mal précisée quant à son mécanisme.

Par contre, et bien que le pigment purique soit, comme l'indique sa nature chimique, un produit d'excrétion, son abondance dans les tissus est tout à fait indépendante et des aliments absorbés par les animaux et de l'activité ou de l'intégrité de l'appareil rénal de ceux-ci. Cette indépendance invite à ranger la guanine pigmentaire parmi les substances de déchet appartenant au « métabolisme endogène », suivant une distinction que FOLIN a proposée pour les Vertébrés supérieurs.

Le pigment purique, qui est d'une toute autre nature chimique que la mélanine ou le lipochrome, a cependant avec ceux-ci d'étroites relations topographiques et physiologiques. L'expérimentation révèle dans nombre de cas l'existence d'un équilibre tel entre la mélanine et la guanine que toute diminution de la quantité d'un des pigments entraîne une augmentation compensatrice de l'autre. J'ai pu montrer un bel exemple de ce

« balancement » en faisant absorber de la lécithine à des têtards ; à l'inhibition de la formation de la mélanine correspond une surproduction de guanine.

Peut-être faut-il voir là une indication en faveur de l'existence d'une substance pigmentogène dont certains facteurs externes ou internes conditionnent l'évolution finale, mais qu'on retrouve à l'origine de tout pigment. Cette hypothèse, pour être sérieusement posée, appelle quelques confirmations expérimentales.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN. — *Science N. S.*, vol. 44, 1916.
 — *Biol. Bull.*, vol. 32, 1917.
 — *Science N. S.*, vol. 52, 1920.
 ASVADOUROVA. — Recherches sur la formation de quelques cellules pigmentaires et des Pigments. *Thèse de médecine*, 1913.
 ATWELL. — *Science N. S.*, vol. 49, 1919.
 — *Anat. Record*, vol. 45, 1919.
 BABAK. — Zur chromatischen Hautfunktion der Amphibien. *Arch. ges. Physiol. Mensch. Tier.*, 1910.
 — Ueber den Einfluss des Nervensystems auf die Pigmentbildung. *Ctbl. f. Physiol.*, 25, 1912.
 — Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Vermehrung der Hautchromatophoren. *Arch. ges. Physiol. d. Mensch. Tier.*, 149, 1913.
 BALLOWITZ (E.). — Die Nervenendigungen der Pigmentzellen. Ein Beitrag zur Kenntnis des Zusammenhanges der Endverzweigungen der Nerven mit dem Protoplasma der Zellen. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. 56, 1893.
 — Die Innervation der Chromatophoren mit Demonstration von Zeichnungen und Präparaten. *Vorhandl. d. Anat. Ges. a. d. 7. Vers. in Göttingen*, 1893.
 — Ueber die Bewegungserscheinungen der Pigmentzellen. *Biol. Ctblatt*, Bd. 43, 1893.
 — Ueber chromatische Organe in der Haut von Knochenfischen. *Anat. Anz.*, Bd. 42, 1912.
 — Ueber chromatische Organe, schwarzrote Doppelzellen und andere eigenartige Chromatophorenvereinigungen, über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen. *Verhandl. d. Anat. Ges. a. d. 27. Vers. in Greifswald*, 1913.
 — Die chromatischen Organe in der Haut von *Trachinus vipera*. Ein Beitrag zur Kenntniss der Chromatophorenvereinigungen bei Knochenfischen. *Arch. ges. Physiol. Mensch. tier.*, 157, 1914.

- Die chromatischen Organe, Melaniridosomen, in der Haut der Barsehe (*Perca* und *Acerina*) Dritter Beitrag zur Kenntnis der Chromatophorenvereinigungen bei Knochenfischen. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. 110, 1914.
- Ueber die Erythrophoren und ihre Vereinigungen mit Iridocyten und Melanophoren bei *Hemichromis bimaculata* Vierter Beitrag zur Kenntnis der Chromatophoren und der Chromatophorenvereinigungen bei Knochenfischen. *Archiv für Zellforschung*, Bd. 14, 1915.
- Ueber die Vereinigungen der Rotzellen mit Guaninzellen in der Haut von *Mullus* und *Grenilabrus*. *Archiv für Zellforschung*, Bd. 14, 1916.
- Ueber die Farbzellenvereinigungen bei *Serranus*. *Arch. f. mikr. Anat.*, XCII, H₄, 1920.
- BARRESWILL. — Sur le blanc d'ablette. *C. R. Ac. Sciences*, 1861.
- BERT (P.) — Sur le mécanisme et les causes des changements de couleur chez le Caméléon. *C. R. Ac. Sciences*, t. 81, 1875.
- BETHE (A.). — Ueber die Silbersubstanz in der Haut von *Alburnus lucidus*. *Ztschr. f. physiol. Chem.*, Bd. 20, 1895.
- BIEDERMANN (W.). — Ueber den Farbenwechsel der Frösche. *Arch. ges. Physiol. Mensch. Tier.*, 51, 1892.
- BIMMERMANN (E.-H.). — Ueber den Einfluss der Nerven auf die Pigmentzellen des Frosches. *Inaug. Diss. zur Erlangung d. med. Doktorwürde a. d. Kaiser Wilhelm. Univ. zu Strassburg*, i. E., 1878.
- BLANCHARD (R.). — Recherches sur la structure de la peau des Lézards. *Bull. Soc. Zool. de France*, vol. 5, 1880.
- BOLK (L.). — Ueber die segmentale Anordnung der Melanoblasten bei jungen Teleostieren. *Verhandl. d. Anat. Ges. a. d. 22. Vers. in Berlin*, 1908.
- BRESCA (G.). — Experimentelle Untersuchungen über die sekundären Sexualcharaktere der Tritonen. *Archiv f. Entw. Mech. d. Organismen*, Bd. 29, 1910.
- BRÜCKE (E.). — Anatomische Untersuchungen über die sogenannten leuchtenden Augen bei den Wirbeltieren. *Archiv f. Anat. Physiol. u. wiss. Med.*, 1845.
- Untersuchungen über den Farbenwechsel des afrikanischen Chamaleons. *Denkschr. d. kais. Akad. d. Wiss. zu Wien*, Bd. 4, 1852.
- CARLTON (F.). — The colour changes in the skin of the so-called Florida Chameleon: *Anolis carolinensis*. *Proc. of the Amer. Acad. of Arts and Sc.*, vol. 39, 1904.
- CARNOT (P.). — Recherches sur le mécanisme de la pigmentation. *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1896.
- CUNNINGHAM (J. F.). — An experiment concerning the absence of colour from the lower side of flat fishes. *Zool. Anz.*, 14, 1891.
- CUNNINGHAM et MAC MUNN. — On the coloration of the skin of fishes, especially of *Pleuronectidae*. *Phil. Transact. of Roy. Soc. of London*, vol. 184, 1893.
- DANILEWSKI. — De l'influence de la lécithine sur la croissance et la multiplication des organismes. *C. R. Ac. Sciences*, 121, 1895.
- Dictionnaire de Physiologie (RICHTER) 1909, article Guanine.
- DUTARTRE (A.). — Sur les changements de couleur chez la Grenouille commune (*Rana esculenta*). *C. R. Acad. Sciences*, tome 111, 1890.
- EBERTH. — Die Nerven der Chromatophoren. *Verhandl. d. Anat. Ges. a. d. 7. Vers. in Göttingen*, 1893.

- EHRENBERG (H. ROSE). — Notwendigkeit einer feineren mechanischer Zerlegung des Gehirns und der Nerven vor der chemischen, dargestellt aus Beobachtungen. Zusatz über normale Cristallbildung im lebenden Tierkörper. *Ann. d. Phys. u. Chem.*, Bd. 28, 1833.
- EHRMANN (S.). — Ueber Nervenendigungen in den Pigmentzellen der Froschhaut. *Sitz. Ber. d. kais. Akad. d. Wiss. zu Wien*, Bd. 84, 1881.
- Zur Kenntnis von der Entwicklung und Wanderung des Pigmentes bei den Amphibien. *Archiv f. Derm. u. Syphilis*, 24, 1892.
- Der melanotische Pigment und die pigmentbildenden Zellen des Menschen und der Wirbeltiere in ihrer Entwicklung nebst Bemerkungen über Blutbildung und Haarwechsel. *Bibliotheka medica, Abt. Derm. u. Syphilidologie*, 1896.
- EIGENMANN (C.-H.). — On the genesis of chromatophores in Fishes. *Amer. Natur*, vol. 25.
- ETERNOD et ROBERT. — Les chromatocytes. Anatomie et Physiologie. *Verhandl. Anat. ges.*, 1908. Berlin.
- EWALD E. u. KRUKENBERG (C.-F.-W.). — Ueber die Verbreitung des Guanin, besonders über sein Vorkommen in der Haut von Amphibien, Reptilien und von *Petromyzon fluviatilis*. *Unters. a. d. Physiol. Inst. d. Univ. Heidelberg*, Bd. 4, 1881-82.
- Ueber Besonderheiten der Guaninablagerung bei Fischen. *Ztschr. f. Biol*, N. F., Bd. 1, 1883.
- FAUSSEK. — Ueber Guaninablagerung bei Spinnen. *Zool. Anz.*, Bd. 35, 1909.
- FICALBI. — Ricerche sulla struttura minuta della pelle degli Anfibi (*Hylidae*). *Atti della R. Acad. Peloritana Messina*. Anno II, 1896-97.
- FISCHEL. — Beeinflussung und Entwicklung des Pigments. *Archiv f. mikr. Anat. u. Entw.*, Bd. 47, 1896.
- FISCHEL. — Beiträge zur Physiologie der Pigmentzellen. *Anat. Hefte*, Bd. 58, 1920.
- FLEMMING. — Ueber die Teilung von Pigmentzellen und Capillarwandzellen. Ungleichzeitigkeit der Kernteilung und Zelltrennung. *Archiv f. mikr. Anat.*, Bd. 1890.
- FRANZ. — Die biologische Bedeutung des Silberglanzes in der Fischhaut. *Biol. Ctblatt*, Bd. 27, 1907.
- FRISCH VON. — Ueber farbige Anpassung bei Fischen. *Zool. Jahrb. Abt. f. allg. Zool. u. Physiol. der Menschen u. der Tiere*, Bd. 138, 1911.
- Beiträge zur Physiologie der Pigmentzellen in der Froschhaut. *Arch. f. d. ges. Physiol. d. Menschen u. d. Tiere*, Bd. 138, 1911.
- Ueber den Einfluss der Bodenfarbe auf die Fleckenzeichnung des Feuer-salamanders. *Biol. centralbl.*, XI, 1920.
- FUCHS (R.-F.). — Der Farbenwechsel und die chromatische Hautfunktion der Tiere. *Handbuch der vergleichenden Physiologie herausgeg. von Winterstein*. Jena, 1914.
- GAUPP (E.) (Ecker u. Wiedersheim). — *Anatomie des Frosches*, Braunschweig, 1904.
- GLEY (E.). — *Physiologie*, 4^e édition, 1918.
- GOLOVINE. — Etudes sur les cellules pigmentaires des Vertébrés. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. 24, 1907.
- HALLER. — Ueber das blaue Hochzeitskleid des Grasfrosches. *Zool. Anz.*, Bd. 207, 1885.
- Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Bd. V.

- HEINCKE. — Bemerkungen über den Farbenwechsel einiger Fische. *Schriften der Naturwiss. Ver. f. Schleswig-Holstein*, Bd. 4, 1875.
- HERBST. — Cité par VON FRISCH, 1920.
- HERING (Th. und Hoyer). — Ueber die Bewegungen der sternförmigen Pigmentzellen und die dadurch erzeugten Veränderungen in der Hautfarbe der Frösche. *Ctbl. f. die mediz. Wiss.*, Bd. 7, 1869.
- HOBGEN et WINTON. — Reactions of frogs melanophores to pituitary extracts. *Proc. Royal Soc. London*, 93-94, 1922.
- HOLMES. — Isolated living pigmentcells Amphibian larvae. *Univ. California Public Zool.*, 11, 1913.
- HOPPE SEYLER. — *Handbuch der chemischen Analyse*, p. 177.
- JOHNSON. — Control of pigment formation in Amphibien larvæ. *Univ. California Public Zool.*, 11, 1913.
- KAMMERER. — Vererbung erzwungener Farbenveränderungen. IV. *Archiv f. Entw. Mech. d. Organismen*, Bd. 36, 1913.
- KAPELKIN. — Die biologische Bedeutung des Silberglanzes der Fischschuppen. *Biol. Ctblatt*, Bd. 27, 1907.
- KELLER (R.). — Ueber den Farbenwechsel des Chamaeleons und einige andere Reptilien. *Arch. f. d. ges. Physiol. d. Menschen u. d. Tiere*, Bd. 61, 1895.
- KNAUTHE. — Ueber Melanismus bei Fischen. *Zool. Anz.*, Bd. 15, 1892.
- KODIS (Th.). — Epithel und Wanderzellen in der Haut des Froschlärvenschwanzes. Zur Physiologie des Epithels. *Archiv f. Anat. u. Physiol*, Suppl. Bd. 1889.
- KÖLLIKER. — Histologische Studien an Batrachierlarven. *Ztschr. f. wiss. Zool.*, Bd. 43, 1886.
- KRAHELKA. — Einfluss der Winterruhe auf dem Bau der Nieren der Land-Pulmonate. *Jenaische Zeitschrift*, 1910.
- KÜHNE u. SEWALL. — Zur Physiologie des Schepithels insbesondere der Fische. *Untersuch. a. d. Physiol. Inst. d. Univ. Heidelberg*, Bd. 3, 1880.
- KURZ. — Versuche über den Einfluss farbigen Lichtes auf die Entwicklung der Pigmente bei den Fischen. *Zool. Jahrb. Abt. allg. Zool. u. Phys.*, XXXVII, 1920.
- LALOY. — La couleur des Poissons et la sélection naturelle. *Revue scientifique*, vol. 8, 1907.
- LAMBLING. — *Précis de Biochimie*, 1921.
- LEYDIG. — *Lehrbuch der Histologie der Menschen und der Tiere*. Frankfurt-a.-M., 1857.
- Ueber Organe eines sechsten Sinnes. Zugleich als Beitrag zur Kenntnis des feineren Baues der Haut bei Amphibien und Reptilien. *Verhandl. d. kaisert. Leopoldino Carolinischen deutschen Akad. der Naturforscher*, Bd. 34, 1868.
- Ueber die allgemeine Bedeckung der Amphibien. *Archiv f. mikr. Anat.*, Bd. 12, 1876.
- Ueber den Blau in der Farbe der Tiere. *Zool. Anz.*, Bd. 8, 1885.
- Blaufarbiger Wasserfrosch, Leuchtflecken der Ellritze. *Der zool. Garten*, Bd. 33, 1892.
- LIST (J.-H.). — Ueber die Herkunft des Pigmentes in der Oberhaut. *Biol. Ctblatt*, Bd. 10, 1890-91.
- LODE. — Beiträge zur Anatomie und Physiologie des Farbenwechsels der Fische. *Sitz. Ber. d. kais. Akad. d. Wiss. zu Wien*, Bd. 99, 1890.

- LOEB (J.). — Contribution on physiology of coloration. *Journ. of Morphol.*, vol. 8.
- MAG CORD — *Journ. of experiment. Zool.*, 23, 1917.
- MAGNAN. — Extraction des pigments chez les Batraciens. *C. R. Acad. Sciences*, tome 144, 1907.
- MANDOUL. — Recherches sur les colorations des téguments. *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1903 et *Annales des Sciences nat.*, 18, 1913.
- MARCHESINI. — Sulla natura e funzione dei cromatofori della Rana. *Bollettino della Soc. zool. italiana*, vol. 10, 1909.
- MAST. — Changes in colour, pattern in fishes and their bearing. *Proc. Nat. Ac. Sc. nat. Etats-Unis*, 4, 1915.
- MATHIAS. — *Tromsdorff's Journ.*, 10, 1843.
- MAYERHOFER (F.). — Farbenwechselversuche am Hechte (*Esox lucius*). *Archiv f. Entw. Mech. d. Organismen*, 28, 1909.
- MILLOT (J.). — Formation des iridocytes chez les Batraciens. *C. R. Soc. Biol.*, juin 1922.
- Contribution à la physiologie du pigment purique. *C. R. Soc. Biol.*, juin 1922.
- Signification biologique de l'argenture des Poissons. *Bull. Soc. Zool. de France*, XLVII, 1922.
- Influence de l'alimentation sur la pigmentation des Vertébrés inférieurs. *C. R. de l'Assoc. des Anatomistes*, 1923.
- MOREL. — *Précis de technique chimique*, 1909.
- MURISIER. — Les pigments de l'alevin de Truite. *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.*, tome 44, 1910.
- Signification biologique de l'argenture des Poissons. *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.*, tome 50, 1915.
- Le pigment mélanique de la Truite. *Revue suisse de Zoologie*, tome 28, 1920-21.
- NEUMANN. — Guaninkristalle in der Interferenzzellen den Amphibien. *Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. u. f. klin. Med.*, Bd. 196, 1909.
- OGNEFF. — Ueber die Veränderungen in den Chromatophoren bei Axolotl und Goldfischen bei dauernden Lichtentbehrung und Hungern. *Anat. Anz.*, Bd. 32, 1908.
- OSAWA. — Beitrag zur feineren Struktur des Integuments der *Hatteria punctata*. *Archiv f. mikr. Anat.*, Bd. 47, 1896.
- POLICARD. — Rôle du chondriome dans la formation des cristaux intracellulaires d'hémoglobine dans la cellule hépatique. *C. R. Soc. Biol.*, 1911 et *Bibliographie anatomique*, XII, 1912.
- POPOFF. — Fischfärbung und Selektion. *Biol. Ctblatt*, Bd. 26, 1906.
- POUCHET (M.-G.). — Note sur la mutabilité de la coloration des Rainettes et sur la structure microscopique de leur peau. *C. R. Acad. Sciences*, tome 27, 1848.
- Rôle des nerfs dans les changements de coloration des Poissons. *C. R. Soc. Biol.*, 1872.
- Sur les changements rapides dans la coloration des Poissons provoqués expérimentalement. *C. R. Acad. Sciences*, 1871.
- Des changements de coloration sous l'influence des nerfs. *Journal Anat. et Physiol. norm. et pathol. de l'homme et des animaux*, 1876.
- POWERS. — *Studies from Zool. Lab. Univ. Nebraska* (1880), cité par JOHNSON.
- PRENANT (A.). — Observations sur les cellules et sur le pigment des Amphibiens. *C. R. Ass. des Anat. Nancy*, 1909.
- *Traité d'Histologie*. Paris, Schleicher, 1904.

- PROWAZEK. — Beitrag zur Pigmentfrage. *Zool. Anz.*, Bd. 23, 1900.
- RAO. — Iridocytes of *Microhyla ornata*. *Record Indian Museum*, 1917.
- RÉAUMUR. — *Mémoires de l'Académie royale des Sciences*, 1716.
- REINKE. — Zellstudien. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 43, 1893-1894.
- RICHEL (Ch.). — Voir *Dictionnaire*.
- RIO HORTEGA del. — *Trabajos del Lab. de Histopatología de la Junta para ampliación de est.*, nº 11, 1921.
- RYNBERG (G. VAN). — Ueber den durch Chromatophoren bedingten Farbenwechsel der Tiere (sog. chromatische Hautfunktion). *Ergebnisse der Physiol.*, 5, 1906.
- SCHMIDT (W.-J.). — Studien am Integument der Reptilien. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. 401, 1912.
- Die Chromatophoren der Reptilienhaut. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 90, 1917.
- Ueber Chromatophorenvereinigungen bei Froschlärven. *Anat. Anz.*, Bd. 51, 1918.
- Ueber die sog. Xantholeukophoren beim Laubfrosch. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 93, 1919.
- Ueber die Methoden der mikroskopischen Untersuchung der Farbzellen und Pigmente in der Haut der Wirbeltiere. *Zeitschr. f. wiss. Mikr.*, Bd. 35, 1918-19.
- Ueber das Verhalten der verschiedenartigen Chromatophoren beim Farbenwechsel des Laubfrosches. *Arch. f. mikr. Anat.*, XCIII, H4, 1920.
- Einige Bemerkungen über Doppelsternchromatophoren bei Urodelenlarven. *Anat. Anz.*, Bd. 53, 1920-21.
- Zur Frage nach der Entstehung der Farbzellenvereinigungen. *Anat. Anz.*, Bd. 53, 1920-21.
- Ueber die Xantholeucosomen von *Rana esculenta*. *Ienaische Zeitschr. f. Med. u. Naturwissenschaft*, Bd. 57, 1921.
- Einiges über die Entwicklung der Guanophoren bei den Amphibien. *Anat. Hefte*, Bd. 59, 1920-21.
- SCHNEIDER. — Lehrbuch der vergleichenden Histologie der Tiere, 1902.
- SCHÜLTZE. — Verkalkung. *Ergebnisse der allgemeinen Pathologie*, 1 Abt. 14, 1910.
- SECEROV. — Ueber einige Farbenwechselfragen. *Biol. Ctblatt*, 1913.
- Farbenwechselversuche an der Bartgrundel (*Nemachilus barbatula*). *Archiv. f. Entw. Mech. d. Organismen*, Bd. 28, 1909.
- Ueber einige Farbenwechselfragen. Ueber den Einfluss der Nahrungsmenge auf den Kontraktionszustand der Melanophoren. *Arch. f. Entw. Mech. d. Organismen*, Bd. 40, 1914.
- SIEBOLD VON. — *Die Süßwasserfische von Mitteleuropa*. Leipzig, 1863.
- SCHNITZLEIN. — Der Glanz der Fischschuppen. *Kl. Mitteil. in Pharmaceutisches Ctbl.*, 8, 1837.
- SMITH. — *Anat. Record*, 11, 1916.
- *Science N. S.*, 1916.
- *Amer. Anat. Mem.*, 1920.
- SOLLAUD. — Rôle du système nerveux dans les changements de coloration chez la Grenouille. *C. R. Acad. Sciences*, 147, 1908.
- SWINGLE. — *Anat. Record*, 18, 1920.
- *Abstracts of Amer. Soc. of Zool.*, 1920.
- The relation of hypophysis to pigmentation changes in Anuran larvae (*R. catesbiana*). *Journ. of experiment. Zool.*, 34, 1921.

- TORNIER. — Experimentelles über Erythrose und Albinismus der Kriechthierhaut. *Sitz. Ber. der Ges. Naturforschenderfreunde zu Berlin*, 1907.
 — Vorläufiges über experimentell erzielten Hautalbinismus bei Axolotllarven. *Sitz. Ber. der Ges. Naturforschenderfreunde zu Berlin*, 1908.
 — Ueber eine albinotische Ringelnatter und ihr Entstehen. *Sitz. Ber. der Ges. Naturforschenderfreunde zu Berlin*, 1908.
 — Ueber das Entstehen von Albinismus und Melanismus beim Frosche. *Zool. Anzeiger*, Bd. 32, 1907.
 TURCHINI. — Etude histologique de la poche du noir des Céphalopodes Dibranchiaux. *Arch. d'Anat. microscopique*, t. XVIII, 1922.
 — Histologie comparée de la cellule rénale. L'excrétion urinaire chez les Mollusques. *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1923 et *Arch. de Morph. gén. et expér.*, vol. 48, 1923.
 VERNE (J.). — Les pigments tégumentaires des Crustacés Décapodes. *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1921 et *Archives de Morphologie générale et expérimentale*, vol. 46, 1923.
 — La méthode d'imprégnation de del Rio Hortega appliquée à l'étude du pigment des Crustacés. *C. R. Soc. Biol.*, tome 85, 1921.
 VIALLI. — Contributo alla conoscenza della distribuzione e forma dei cromatofori nello *Spelerpes fuscus*. *Atti Soc. ital. Sc. natur.*, LIX, 1920.
 VOIT. — Ueber die in den Schuppen und die Schwimmblase von Fischen vorkommenden irisierenden Krystalle. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. 45, 1865.
 WAGNER. — Beiträge zur Entstehung des jugentlichen Farbkleides der Forelle (*Salmo fario*). *Intern. Rev. ges. Hydrobiol. u. Hydrograph. Biol. Suppl.*, Bd. 3, 1910.
 WEIGL. — Über Hauttransplantation bei Amphibien. *Archiv f. Entw. Mech. d. Organismen*, Bd. 36, 1913.
 WINCKLER. — Studien über Pigmentbildung. *Archiv f. Entw. Mech. d. Organismen*, Bd. 29, 1910.
 WITTICH VON. — Ueber den Metallglanz der Fische. *Arch. f. Anat. Physiol. u. wiss. Med.*, 1854.
 — Die grüne Farbe der Haut unserer Frösche, ihre physiologischen und pathologischen Veränderungen. *Arch. f. Anat. Physiol. u. wiss. Med.*, 1854.
 — Entgegnung auf Herrn Harless « Über die Chromatophoren des Frosches ». *Arch. f. Anat. Physiol. u. wiss. Med.*, 1854.
 ZIMMERMANN. — Ueber die Teilung der Pigmentzellen speziell die verästelten intraepithelialen. *Archiv f. mikr. Anat.*, Bd. 36, 1890.

Travail du laboratoire d'Histologie de la Faculté de médecine de Paris (Professeur A. Prenant).

VU : Le Doyen,
H. ROGER.

VU : Le Président,
A. PRENANT.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
P. APPELL.

PLANCIE IX

EXPLICATION DE LA PLANCHE IX

Figures faites d'après des étalements de tissus appartenant à des Poissons ou à des Batraciens, fixés par le liquide de Carnoy et montés dans le baume du Canada sans coloration.

L'échelle ne s'applique pas aux figures 2, 4, 9 et 10.

Fig. 1. — Peau ventrale de têtard de *Rana temporaria*. Leucocyte rempli de cristaux de guanine, fixé dans le derme et commençant à s'y ramifier. $\times 1000$.

Fig. 2. — Queue d'une larve de *Triton palmatus*. Jeune guanophore d'origine conjonctive. $\times 1000$.

Fig. 3. — Peau ventrale de têtard de *Rana esculenta*. Jeune guanophore d'origine conjonctive. $\times 1000$.

Fig. 4. — Alevin de *Salmo lacustris*. Guanophores jeunes. $\times 1000$.

Fig. 5. — Têtard de *Rana temporaria* jeûnant depuis deux mois. Guanophores altérés. $\times 1000$.

Fig. 6. — Têtard de *Rana temporaria* nourri exclusivement au jaune d'œuf depuis deux mois. Guanophores remarquablement étalés et ramifiés. $\times 1000$.

Fig. 7. — Peau dorsale de *Hyla arborea*. Guanophores entourant une glande (à comparer avec la fig. 2 de la Pl. XII). $\times 1000$.

Fig. 8. — Peau latérale de *Rana agilis*. Guanophore géant entourant presque complètement une glande. $\times 1000$.

Fig. 9. — Queue de larve de *Salamandra maculosa*. Guanophore en étoile double. $\times 750$.

Fig. 10. — Queue de larve de *Triton alpestris*. Guanophore de type ramifié. $\times 750$.

Fig. 11. — Queue de têtard d'*Alytes obstetricans*. Deux cellules filles symétriques et opposées résultant de la division d'un guanophore.

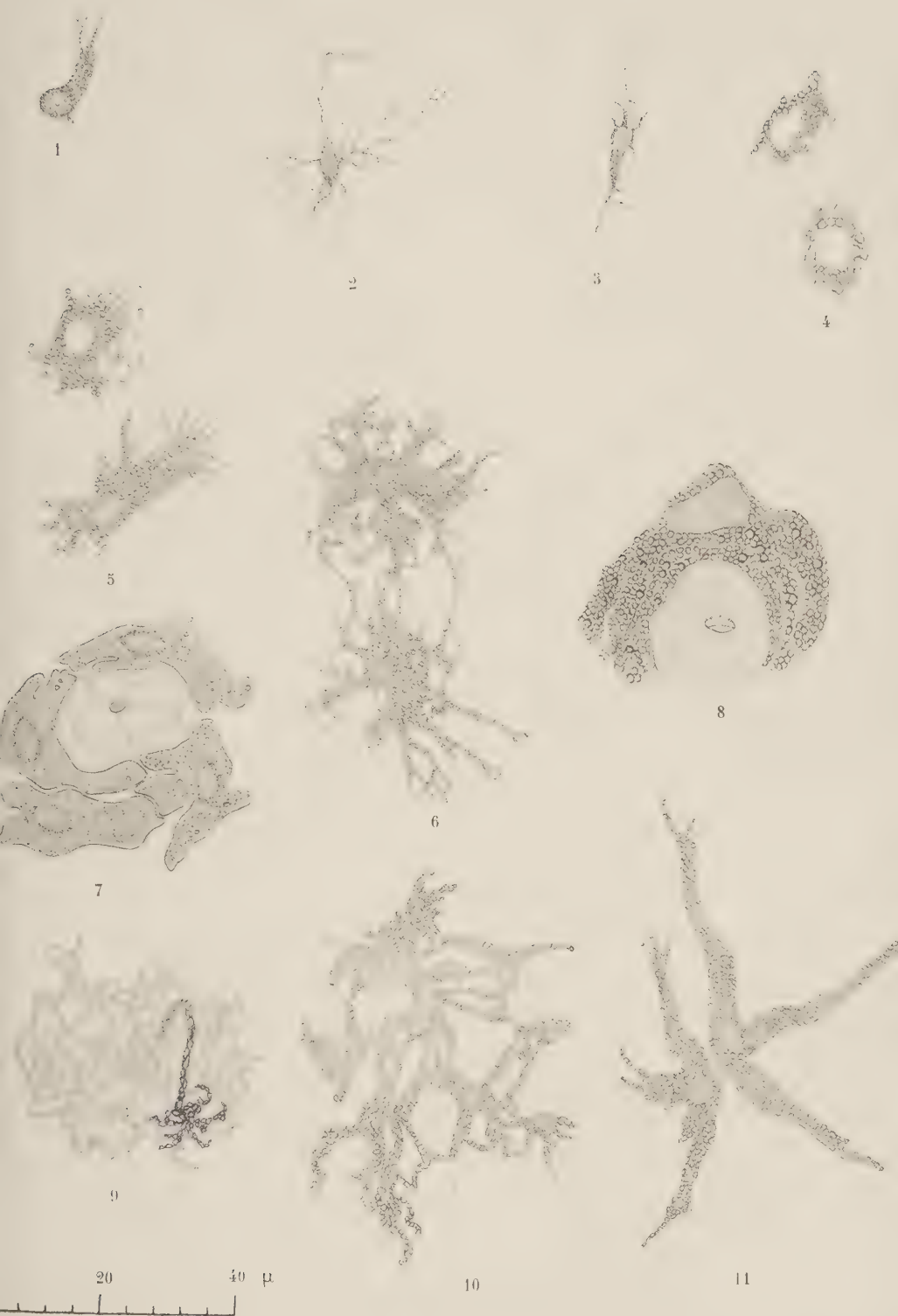


PLANCHE X

EXPLICATION DE LA PLANCHE X

- Fig. 1 et 2. — Peau ventrale de têtard de *Rana temporaria*. Guanophore en division. Flemming. Bleu polychrome de Unna. $\times 4000$.
- Fig. 3. — Têtard de *Rana temporaria*. Peau ventrale. Groupe de guanophores résultant de deux divisions successives. Flemming. Bleu polychrome de Unna. $\times 700$.
- Fig. 4, 5 et 6. — Têtard de *Rana temporaria*. Peau ventrale. Mode de division particulier des guanophores (cf. p. 294). Flemming. Bleu polychrome de Unna. $\times 800$.
- Fig. 7. — Peau latérale d'une Grenouille rousse, jeûnant depuis quatre mois. Au près de deux prolongements d'un guanophore altéré, plusieurs phagocytes : l'un bourré de mélanine et de pigment jaune, les autres contenant presque exclusivement des grains de guanine. Carnoy. Montage au baume du Canada. $\times 1500$.
- Fig. 8. — Peau de têtard de *Pelodytes punctatus*. Un guanophore et un xanthophore superposés, réalisant l'aspect du xantho-leucophore des auteurs allemands. Préparation fraîche. $\times 1000$.
- Fig. 9 et 10. — Peau de têtard de *Pelodytes punctatus*. Un guanophore et un xanthophore, primitivement superposés, déplacés par dissociation, de façon à montrer l'indépendance des deux cellules et l'existence de deux noyaux distincts. Préparation fraîche. $\times 1000$.
- Fig. 11. — Têtard de *Rana temporaria*. Peau ventrale. Guanophore venant de se diviser. Les deux cellules filles vont subir à leur tour la division directe : l'un des noyaux s'étrangle, l'autre présente une incisure profonde. Flemming. Bleu polychrome de Unna. $\times 1500$.
-



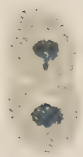
1



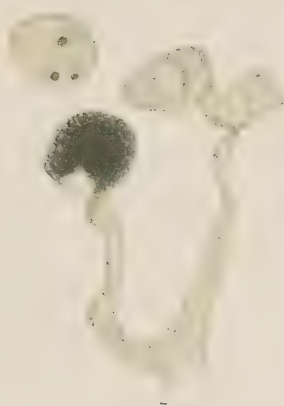
3



4



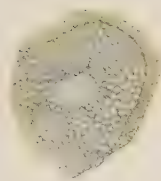
2



7



6



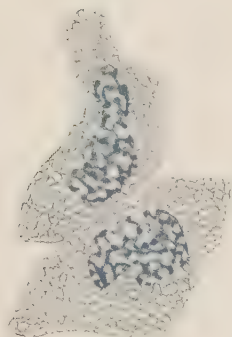
8



5



9



11



10

DU PUIGAUDEAU del.

IMP. BARNÉOUD, LAVAL

Pigment purique des Vertébrés inférieurs.

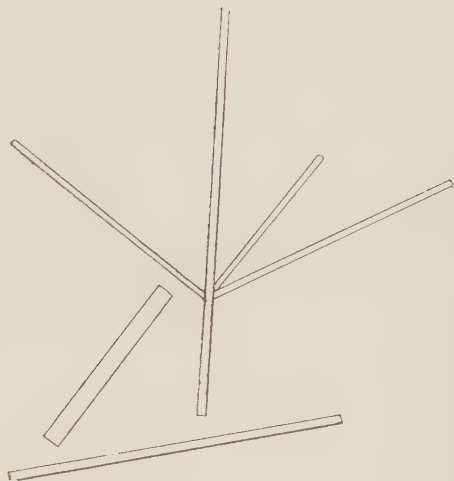
PLANCHE XI

EXPLICATION DE LA PLANCHE XI

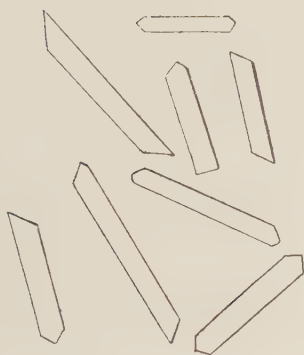
- Fig. 1. — Cristaux de picrate de guanine obtenus à partir du pigment des écailles d'Ablette. $\times 300$.
- Fig. 2. — Cristaux de chlorhydrate de guanine obtenus à partir du pigment des écailles d'Ablette. $\times 300$.
- Fig. 3. — Cristaux contenus dans les écailles d'Ablette. $\times 1000$.
- Fig. 4. — Cristaux contenus dans le péritoine de *Carassius auratus*. $\times 2500$.
- Fig. 5. — Une maille du réseau péritonéal de *Gadus luscus*. Disposition longitudinale des cristaux de guanine (à rapprocher de la fig. 1 de la planche XII) $\times 1200$.
- Fig. 6. — Cristaux. *Anguis fragilis*. $\times 5000$.
- Fig. 7. — Cristaux. Batraciens. $\times 8000$.
-



1



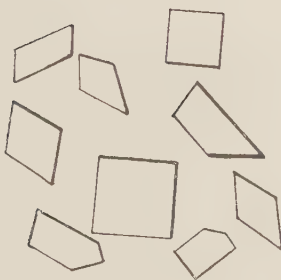
2



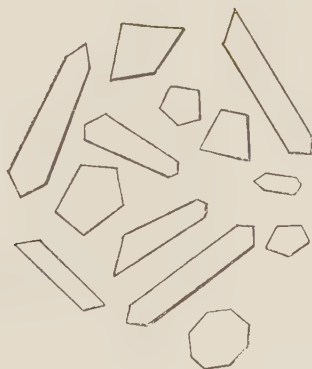
3



4



5



6



7

PLANCHE XII

EXPLICATION DE LA PLANCHE XII

Préparations fixées à l'alcool absolu et montées au baume du Canada sans coloration.

Fig. 1. — Péritoine de *Gadus luscus*. Les guanophores sont disposés en deux réseaux superposés dont les mailles sont perpendiculaires (cf. fig. 5, Pl. XI). $\times 100$.

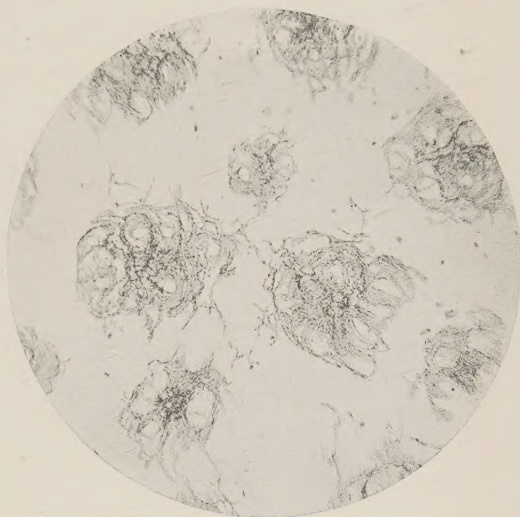
Fig. 2. — Peau ventrale de *Rana temporaria*. Les guanophores sont disposés autour des glandes, dont ils enserrent le col. Celui-ci apparaît sous forme d'un petit cercle clair. $\times 80$.

Fig. 3. — Têtard de *Rana temporaria* de 3 cm. normalement nourri. Peau ventrale. Guanophores à demi contractés, disposés par petits groupes isolés. $\times 80$. A comparer avec la préparation suivante.

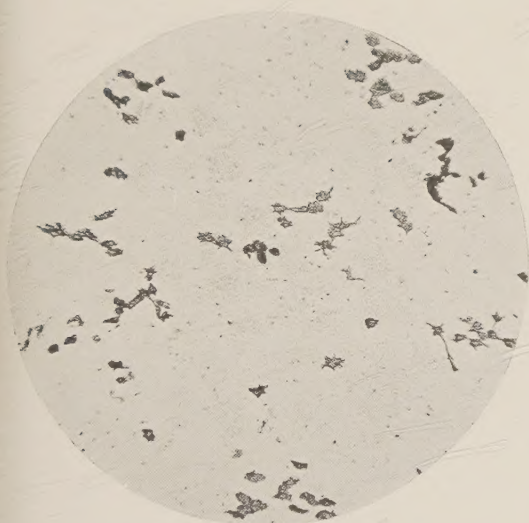
Fig. 4. — Têtard de *Rana temporaria* de 3 cm., nourri exclusivement au jaune d'œuf. Peau ventrale. Guanophores en expansion maxima, très ramifiés, beaucoup plus nombreux que dans la préparation précédente. $\times 80$.



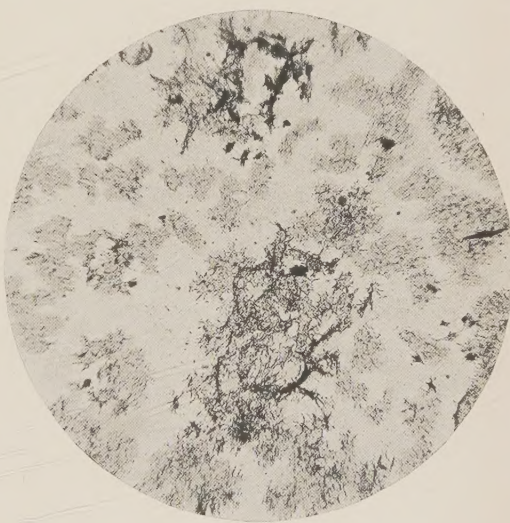
1



2



3



4

MILLOT phot.

IMP. BARNÉOUD. LAVAL

Pigment purique des Vertébrés inférieurs.

12